ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE
ANNÉE 1982 N° 29

# CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA LEPTOSPIROSE
## SONDAGE SEROLOGIQUE EN MORBIHAN BOVINS - EQUINS - HUMAINS (JUIN - NOVEMBRE 1979)

# THÈSE

**POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE**
**DIPLÔME D'ÉTAT**

*présentée et soutenue publiquement en 1982*
*devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*
*par*

**Alain, François, Joseph BERTA**
*Né le 26 Juin 1953 à PARIS (13ème)*

Jury :

Président : M. ARMENGAUD
Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

Assesseurs :
M. CHANTAL
Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse
M. GUELFI
Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

Association des Élèves
E.N.V.T.

UNIV.
LEIDEN
KOL.

ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE
ANNÉE 1982 N° 29

# CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA LEPTOSPIROSE
## SONDAGE SEROLOGIQUE EN MORBIHAN BOVINS - EQUINS - HUMAINS (JUIN - NOVEMBRE 1979)

# THÈSE

**POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE**
**DIPLÔME D'ÉTAT**

*présentée et soutenue publiquement en 1982*
*devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*
*par*

**Alain, François, Joseph BERTA**
*Né le 26 Juin 1953 à PARIS (13ème)*

Jury :

Président : M. ARMENGAUD
Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

Assesseurs : M. CHANTAL
Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

M. GUELFI
Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

Association des Élèves
E. N. V. T.

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

# ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur ..... M. LAUTIE
Directeur honoraire ..... M. FLORIO
Professeurs Honoraires ..... M. BRIZARD
M. SAURAT

## PERSONNEL ENSEIGNANT

### CHAIRE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE

Professeur titulaire ..... M. GODFRAIN
Professeur sans chaire ..... Mme BURGAT-SACAZE

Pharmacie et Toxicologie

### CHAIRE DE PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Professeur titulaire ..... M. RICO
Professeur sans chaire ..... M. BRAUN
Maître-Assistant ..... M. BENARD

Physique biologique et médicale
Chimie biologique et médicale
Informatique biologique et médicale

### CHAIRE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES

Professeur titulaire ..... M. PAVAUX
Maître-Assistant ..... M. LIGNEREUX
Maître-Assistant ..... M. SAUTET

Organogénèse - Tératologie
Anatomie générale - Anatomie appliquée

### CHAIRE DE PHYSIOLOGIE, PHARMACODYNAMIE ET THERAPEUTIQUE

Professeur titulaire ..... M. RUCKEBUSCH
Professeur sans chaire ..... M. FARGEAS
Maître-Assistant Agrégé ..... M. TOUTAIN

Physiologie - Pharmacodynamie
Thérapeutique

### CHAIRE D'HISTOLOGIE - ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Professeur titulaire ..... M. VAN HAVERBEKE
Professeur sans chaire ..... M. CABANIE
Maître Assistant Agrégé ..... M. MAGNOL

Histologie - Embryologie
Anatomie Pathologique - Clinique

### CHAIRE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE

Professeur titulaire ..... M. LABIE
Maître-de Conférences ..... M. EECKHOUTTE
Maître-Assistant agrégé ..... Mme BENARD

Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie
des Denrées alimentaires d'Origine Animale
Clinique

### CHAIRE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES

Professeur titulaire ..... M. DORCHIES
Maître de Conférences ..... M. FRANC
Maître-Assistant ..... M. DUCOS DE LAHITTE

Zoologie appliquée - Ecologie
Parasitologie externe - Dermatologie
Parasitologie interne - Clinique

### CHAIRE DE SEMIOLOGIE ET PATHOLOGIE MEDICALE DES EQUIDES ET CARNIVORES ET DE LEGISLATION

Professeur titulaire ..... M. LESCURE
Maître de Conférences ..... M. GUELFI
Maître-Assistant ..... M. REGNIER

Sémiologie et Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores
Législation Vétérinaire et Déontologie-Clinique

### CHAIRE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR

Professeur titulaire ..... M. TOURNUT
Maître de Conférences ..... M. BEZILLE
Maître-Assistant ..... M. JOUGLAR

Sémiologie et Pathologie Médicale du Bétail
et des Animaux de Basse-Cour - Clinique
Consultation itinérante

### CHAIRE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Professeur titulaire ..... M. CAZIEUX
Maître-Assitant Agrégé ..... M. GENEVOIS
Maître-Assistant ..... M. AUTEFAGE
Maître-Assistant ..... M. FAYOLLE

Propédeutique et Sémiologie Chirurgicale
Radiologie - Technique chirurgicale
Anesthésiologie - Pathologie chirurgicale
Traumatologie - Podologie orthopédique
Clinique

### CHAIRE DE PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION

Professeur titulaire ..... M. FERNEY
Professeur sans chaire ..... M. ROYAL

Pathologie de l'appareil génital et de la mamelle
Sémiologie et Propédeutique
Pathologie de la reproduction
Obstétrique et pathologie du nouveau-né
Clinique - Consultation itinérante

### CHAIRE DE MALADIES CONTAGIEUSES - ZOONOSES LEGISLATION SANITAIRE

Professeur titulaire ..... M. CHANTAL
Maître-Assistant ..... M. PICAVET

Epidémiologie - Maladies Contagieuses
Zoonoses - Législation Sanitaire
Clinique

### CHAIRE DE PATHOLOGIE GENERALE - MICROBIOLOGIE - IMMUNOLOGIE

Professeur titulaire ..... M. LAUTIE
Maître-Assistant ..... M. PELLERIN
Maître-Assistant ..... M. MILON

Microbiologie - Immunologie
Pathologie Générale

### CHAIRE D'ELEVAGE ET ECONOMIE

Professeur titulaire ..... M. QUEINNEC
Professeur sans chaire ..... M. DARRE
Maître-Assistant ..... Mme. QUEINNEC

Ethnologie - Génétique animale
Extérieur - Zootechnie et Economie générales
Ethologie Appliquée, Sciences, Techniques
Economie de l'Elevage et des Productions animales
Insémination artificielle
Organisation de l'élevage

### CHAIRE D'ALIMENTATION

Professeur titulaire ..... M. FALIU
Professeur sans chaire ..... M. GRIESS
Maître-Assistant ..... M. ENJALBERT

Botanique Appliquée et Bromatologie
Agronomie - Alimentation

### CHARGES D'ENSEIGNEMENT

MM. Les Professeurs ANGELIER, ARMENGAUD, COMBES, COMBRET, CROS, FERNET et MAZENC

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats (délibération de la Faculté en date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 juin 1924).

A MES PARENTS

*Que j'admire et qui sont pour moi un exemple.*
*Avec toute mon affection et ma reconnaissance.*

A MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur ARMENGAUD

*Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre Jury de Thèse,*

*Hommage respectueux.*

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur J. CHANTAL,
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

*Qui nous a fait l'honneur d'accepter ce travail.*

*Qu'il veuille trouver ici l'expression de notre vive gratitude.*

Monsieur le Professeur GUELFI
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

*Que nous remercions d'avoir bien voulu faire partie de notre Jury de Thèse.*

*Hommage respectueux.*

A monsieur le Docteur M. MAILLOUX,
Chef de Laboratoire à l'Institut Pasteur

*Hommage respectueux et reconnaissant.*

A Messieurs le Docteur TREGRET, Vétérinaire à Hennebont

le Docteur ROLLAND, Vétérinaire à Auray

le Docteur MINOT, Vétérinaire en Chef à Coëtquidan
Saint-Cyr

A l'Institut Pasteur

A la Médecine du Travail

A la Direction des Services Vétérinaires de Vannes

# P L A N


INTRODUCTION..... p. 1

Première Partie : DONNEES ETIOLOGIQUES - APPLICATIONS AU DIAGNOSTIC... p. 3

A. - Données étiologiques : étude de l'agent infectieux..... p. 3

I. - Morphologie et structure..... p. 3
1. Morphologie au microscope optique
2. Morphologie au microscope électronique
3. Morphologie après coloration

II. - Physiologie du leptospire..... p. 7
1. Vie de relation..... p. 7
a) Mobilité
b) Respiration

2. Vie de nutrition..... p. 9
a) Besoins nutritifs
b) Substances élaborées

3. Vie de reproduction..... p. 10

4. Résistance..... p. 11
a) Résistance dans les milieux de culture
b) Résistance dans l'organisme
c) Résistance dans le milieu extérieur

5. Activité antigénique..... p. 14

6. Pouvoir pathogène - Virulence..... p. 15

III. - Milieux de culture..... p. 16

B. - Taxonomie..... p. 16

I. - Espèces..... p. 16

II. - Deux groupes..... p. 17

C. - Diagnostic biologique..... p. 17

I. - Rappels physiopathologiques..... p. 17

II. - Diagnostic biologique..... p. 20

1. Diagnostic direct..... p. 20
a) Bactérioscopie directe
b) Cultures
c) Inoculation

2. Diagnostic indirect..... p. 21
2.1. Réactions de dépistage
2.2. Réaction de défense

Deuxième Partie : DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES..... p. 25

A. - Données analytiques..... p. 25

I. - Les sources..... p. 25
1. Les réservoirs..... p. 27

2. Les vecteurs..... p. 28
2.1. Les vertébrés
2.2. Les arthropodes
2.3. Survie des leptospires dans le milieu extérieur

II. - Les facteurs de réceptivité..... p. 34
1. Influence de l'hôte et du sérotype..... p. 34

2. Adaptation de l'hôte..... p. 34

3. Influence de la race..... p. 35

4. Influence du sexe..... p. 35

5. Influence de l'âge..... p. 36

6. Influence des infections concomitantes..... p. 36

III. - Modes de transmission..... p. 36

1. Contact indirect..... p. 36

2. Contact direct..... p. 36

B. - Données synthétiques..... p. 37

I. - Répartition géographique..... p. 37

II. - Morbidité - Mortalité..... p. 39

III. - Cycle de transmission..... p. 40

Troisième Partie : ENQUETES DANS QUELQUES DEPARTEMENTS DU MORBIHAN
DONNEES CLINIQUES ET SEROLOGIQUES..... p. 43

A. - Données cliniques..... p. 44

I. - Symptomatologie générale des leptospiroses..... p. 44

1. Aspect clinique de la leptospirose humaine..... p. 44
a) Signes fondamentaux
b) Signes évolutifs en l'absence de traitement
c) Signes facultatifs

2. Les leptospiroses bovines..... p. 45
2.1. Aspect clinique des leptospiroses bovines
a) La leptospirose ictéro-hémorragique type
b) La leptospirose atypique
2.2. Diagnostic différentiel
3. Les leptospiroses équines..... p. 48
3.1. Symptomatologie
a) Formes typiques
b) Formes atypiques
3.2. Diagnostic différentiel
4. Les lésions..... p. 50
4.1. Animal mort pendant la phase septicémique
4.2. Animal mort pendant la phase d'état
II. - Situation dans le Morbihan..... p. 51
B. - Données sérologiques..... p. 52
I. - Méthodes..... p. 52
II. - Résultats..... p. 53
1. Bovins..... p. 53
a) Résultats
b) Discussion
2. Chevaux..... p. 56
a) Résultats
b) Discussions - Comparaisons
c) Etude particulière
3. Les humains en contact..... p. 60
CONCLUSION GENERALE..... p. 63
BIBLIOGRAPHIE..... p. 67

# INTRODUCTION

Ce qui devait devenir la "leptospirose" était déjà décrit comme entité médicale en médecine humaine en 1886 : c'était la "maladie de Weil". Mais son étiologie demeura inconnue jusqu'à la découverte simultanée en 1916 au Japon (44), en Allemagne (77) et en France (56) de son agent causal : *Spirocteta ictero haemorrhagiae*.

A ce moment là, on ne pouvait supposer l'importance grandissante qu'allait connaître cette maladie. Pendant quelques temps, l'étude du leptospire resta strictement une recherche de laboratoire, puis progressivement, il devint évident que dans tous les pays où les leptospires étaient recherchés, la maladie avait été signalée. Peu après l'identification de l'agent causal chez l'homme, il fut isolé chez le rat *Rattus norvegicus* (44) ; puis, différents sérotypes furent découverts chez celui-ci et d'autres rongeurs.

Mais l'absence de signes cliniques chez ces derniers fut probablement la cause du retard constaté dans l'établissement de la responsabilité de ce genre en pathologie des animaux domestiques. Ce ne fut que 20 ans plus tard, en effet, qu'un nombre sans cesse croissant de maladies animales, déjà connues en partie des vétérinaires, se révélèrent être la leptospirose.

Aujourd'hui, son importance sanitaire ou hygiénique (animale et humaine) ainsi qu'économique est universellement reconnue, et elle a fait l'objet de nombreux travaux et mises au point, qui soulignent tous la fréquence non négligeable des infections inapparentes animales.

Dès lors, il nous a paru intéressant, non seulement de rassembler les données récentes concernant ces bactéries très particulières et l'épidémiologie de l'infection correspondante, mais encore de nous livrer à une enquête sérologique dans une région du Morbihan où nous avons été appelé à exercer.

• L'étude de la morphologie, de la physiologie, de la physiopathologie de l'agent causal permettent de comprendre les techniques de sérodiagnostic ; nous y consacrerons l'étude de notre première partie.

• Les données épidémiologiques, analytiques et synthétiques sont beaucoup plus complexes qu'on ne le croyait naguère et elles représentent sans doute un des progrès les plus importants que l'on ait fait dans l'étude de cette maladie, débouchant sur les mesures prophylactiques sanitaires ; nous les présenterons dans une deuxième partie.

• La troisième partie de cette thèse exposera les résultats d'analyses sérologiques de 53 bovins, 216 équins et 73 personnes en contact (les propriétaires et le personnel des haras), répartis dans un secteur géographiquement déterminé : Avray, Coëtquidan, Hennebont dans le Morbihan. Les résultats obtenus seront ensuite comparés avec ceux publiés par les auteurs cités en référence.

## Première Partie : DONNEES ETIOLOGIQUES - APPLICATIONS AU DIAGNOSTIC

Depuis l'époque de leur découverte, le nombre de leptospiroses s'est considérablement accru par la mise en évidence de nouvelles souches, qui ont été dénommées et groupées. Parallèlement, les connaissances sur l'agent infectieux, au début fragmentaires et isolées, se sont précisées. Des moyens d'investigation élaborés ont permis une connaissance détaillée de la morphologie et de la physiologie du leptospire.

A la lumière de ces données étiologiques, sa physiopathologie s'explique plus aisément ; et de là, l'application au choix des méthodes de sérodiagnostic.

### A. - DONNEES ETIOLOGIQUES : Etude de l'agent infectieux

#### I. - Morphologie et structure

##### 1. Morphologie du leptospire au microscope optique

Le leptospire est invisible au microscope ordiaire. En effet, son diamètre est inférieur à la longueur d'onde moyenne (0,5 µ). Après coloration, le corps du leptospire est imprégné de particules qui augmentent le diamètre et l'amènent aux limites du pouvoir résolutif. Mais le résultat est décevant : on ne voit que des corpuscules granulaires ou cylindriques. L'examen au microscope sur fond noir permet une meilleure description du leptospire. Le leptospire *ictero haemorrhagiae* peut être pris comme exemple.

Du 3e au 5e jour de la culture, la morphologie à l'état frais est la suivante : on découvre un filament hélicoïdal gracile, mesurant en moyenne 8-9 µ

de long et 0,1-0,2 µ de diamètre, comparable à un ressort à spires serrées. On dénombre en moyenne 20 à 30 spires, chacune d'elles étant séparée de sa voisine par un espace de 0,3 à 0,5 µ. Les deux extrémités sont recourbées en crochet, ce qui donne au germe l'aspect d'un C ou d'un S. Tous les leptospires ont des caractères voisins de ceux-ci ; mais les crochets peuvent être plus ou moins nets et les extrémités peuvent être effilées ou terminées par un bouton.

Dans les cultures de plus de 15 jours, un certain polymorphisme apparaît. On note alors la présence de granulés cocciformes latéraux ou terminaux faisant plus ou moins corps avec le germe ; ce serait soit des produits de dégénérescence soit des éléments de résistance.

Fig. 1 : *L. grippotyphosa* : x 45.000
Morphologie générale.

Fig. 2 : *L. icterohaemorrhagiae* : x 125.000

Enveloppe externe bien visible, filament axial et cylindre cytoplasmique en hélice enroulé avec le filament axial.

2. Morphologie au microscope électronique

L'observation à plus fort grossissement au microscope électronique précise ce que révélait déjà le microscope à fond noir. On observe alors un organe locomoteur : le filament axial, autour duquel un cylindre central s'enroule en hélice : le corps cellulaire. Une enveloppe externe de 5 couches engaine le tout. Celle-ci est séparée du cylindre cytoplasmique par un espace contenant les filaments axiaux. Elle est souple, élastique mais peu résistante, et ses altérations sont le point de départ de formations bulbeuses latérales et surtout terminales.

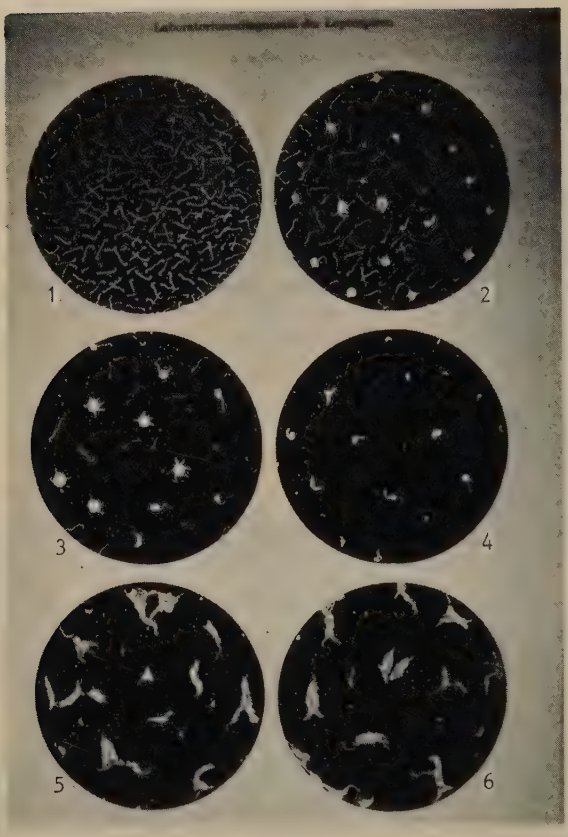



Fig. 3 :

1. Leptospires libres en culture.
2. Début d'agglutination et de lyse.
3. Agglutination forte, lyse intense.
4. Agglutination dense, très forte lyse.
5. et 6. Agglutination et lyse.

### 3. Morphologie après coloration

L'aspect sur les frottis colorés du leptospire est celui d'un filament mince, pâle, ayant conservé les ondulations du corps et les courbures des extrémités mais non les spires. La morphologie est très altérée par toute coloration.

Parmi celles-ci, nous ne retiendrons que la plus usitée : la coloration de Vago. Le frottis est fixé pendant 3 minutes avec une solution de mercurochrome à 2 % puis lavé. Il est coloré pendant 5 minutes avec une solution au violet de méthyle à 2 %. Ces leptospires apparaissent alors colorés en violet sur fond rouge.

## II. - Physiologie du leptospire

### 1. Vie de relation

#### a) Mobilité

Tous les leptospires saprophytes ou pathogènes sont spontanément mobiles. Cette mobilité peut être bien appréciée à l'observation sur fond noir d'une préparation fraîche.

Les mouvements se décomposent en trois coordonnées : flexion du corps, rotation autour de l'axe et translation. Grâce à la combinaison de ces trois mouvements, le leptospire peut se diriger dans toutes les directions.

Les mouvements de translation et de rotation sont concomitants de sorte que le leptospire peut être assimilable à une vis. L'inversion de la marche peut se produire sans changement marqué de modalité de mouvement et sans l'intervention d'une incitation visible (23). Le mouvement de rotation est si rapide que le bouton terminal peut donner l'illusion optique d'un fuseau tournant.

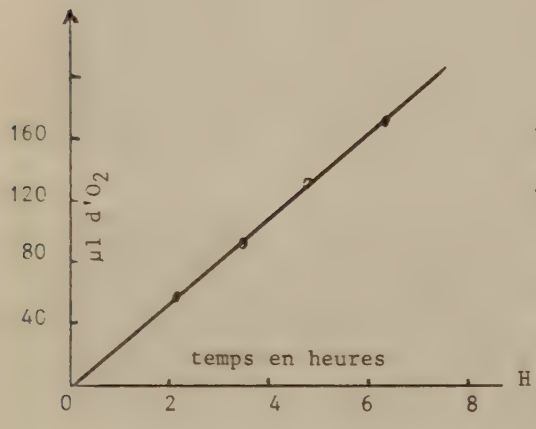
Il existe aussi des mouvements d'inflexion dans le sens de la plus grande longueur. Ce mouvement serait produit par le protoplasme et non par l'axostyle. En effet, ce mouvement est diminué ou ralenti quand il y a une modification, par action d'un antibiotique par exemple, de la composition du cytoplasme.

La capacité de pénétration active du leptospire dans les tissus, liée à sa mobilité, n'est pas très considérable et ne semble pas dépendre de la virulence du germe.

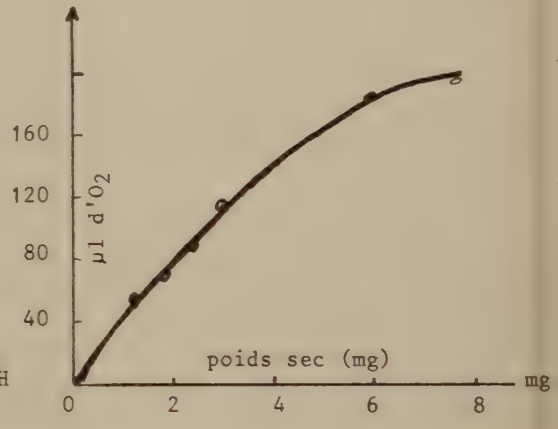
#### b) Respiration

Les leptospires sont des germes aérobies stricts : ils ne peuvent pas vivre en l'absence d'$O_2$ ou dans un milieu fortement réducteur. Dès 1918, NOGUCHI avait remarqué que les leptospires poussent dans les couches supérieures du milieu de culture.

Après ensemencement en milieu gélosé semi-solide et incubation de 4 jours, on observe un mince disque blanchâtre à 10 mm au-dessous de la surface. Ce disque est composé d'un enchevêtrement très dense de leptospires. Cette zone est au niveau de la pression d'$O_2$ maxima pour laquelle la croissance des leptospires est possible. Dans les zones inférieures, le manque d'$O_2$ empêche la multiplication dans le milieu nutritif. FULTON et SPOONER ont bien étudié en 1956 la respiration du leptospire *ictero haemorrhagiae*. (28)




Consommation d'$O_2$ de 2,4 mg de leptospires dans le milieu de Korthof à 25°C (28)




Consommation horaire d'$O_2$ de leptospires à différentes concentrations en milieu de Korthof

FULTON et SPOONER (28) ont montré par spectroscopie la présence d'un système respiratoire cytochrome C.

Le réactif mettant en évidence la présence d'une oxydase, l'oxalate de para-amino-diméthyl-aniline donne des résultats rapides et clairs : les leptospires sont des germes "oxydase positif" (35).

## 2. Vie de nutrition

### a) Besoins nutritifs

#### (1) Eau et sels minéraux

Comme tous les êtres vivants, les leptospires ont besoin d'eau et de sels minéraux. Cette notion remonte pratiquement à la découverte du germe. MANTEUFEL (55) avait remarqué qu'une ambiance sèche ou une trop forte concentration en NaCl était fatale au leptospire.

#### (2) Glucides

Les leptospires consomment par la voie des pentoses, le glucose, le galactose, le saccharose. Le mannose est peu touché.

#### (3) Lipides

BERTOK et KEMENES (8) ont montré en 1960 l'activité lipasique des leptospires. Ils ont montré l'apparition d'une lipase leptospirienne (la tributyrinase) dans les cultures liquides et sa relation avec l'hémotoxine.

L'activité lipasique et lipolytique dépend des souches : les souches saprophytes ont une activité lipasique, tandis que les souches pathogènes ne la possèdent pas toujours (64). Cette différence pourrait être utilisée pour la classification.

#### (4) Acides aminés, protides, vitamines

La question de l'utilisation des protides et des acides aminés est compliquée du fait de la nécessité d'incorporer du sérum de lapin aux milieux de culture des souches pathogènes. En définitive, huit acides aminés sont transaminés avec l'$\alpha$ cétoglutamate, trois avec le pyruvate et seulement l'acide L-glutamique avec l'oxalacétate comme accepteurs.

Puisque les leptospires sont pourvus d'un système cytochrome et peuvent métaboliser les acides aminés, ceux-ci sont utilisés comme source d'énergie.

Une activité catalasique est montrée par FAINE (25) pour de nombreuses souches de leptospires pathogènes.

La thiamine et la vitamine $B_{12}$ sont aussi consommées.

(5) Les facteurs de croissance

L'addition de vitamine $B_{12}$ au milieu de culture ordinaire contenant du sérum de lapin augmente considérablement le développement de certains leptospires et on peut ainsi réduire la dose habituelle de sérum de 10 % et obtenir quand même un excellent développement de ces leptospires.

Là aussi, on peut diviser les leptospires en deux groupes : les leptospires pathogènes parasites pour lesquels le sérum de lapin est indispensable au développement, à la multiplication et à la survie ; les leptospires saprophytes aquicoles qui peuvent croître dans un milieu composé d'eau, de sels minéraux, d'acides aminés et de vit. $B_{12}$ : cette dernière est donc un facteur de croissance pour ces leptospires.

b) Substances élaborées

La découverte, dans la culture des leptospires, d'un facteur capable d'hémolyser les globules rouges de mouton a été faite par ALEXANDER et coll. (1) et l'activité hémolytique des leptospires, *in vivo*, serait l'attribut d'une toxine, l'hémolysine.

Cette hémolysine est soluble dans l'eau, non dialysable, thermolabile, oxygénostable dans le surnageant des cultures, neutralisable par l'immunsérum. *In vitro*, la production d'hémolysine n'est pas en relation avec la virulence (78).

VAN RIEL (67) a ensuite confirmé et élargi les travaux d'ALEXANDER (1). Onze sérotypes produisent une hémolysine, mais dans chaque sérotype, certaines souches sont hémolytiques, d'autres ne le sont pas. Cette distinction pourrait, d'après l'auteur, servir à l'identification et la classification des souches de leptospires pour l'établissement des sérogroupes.

3. Vie de reproduction

La multiplication se fait par division transversale, la division longitudinale n'a jamais été observée.

Le leptospire se plie d'abord à angle droit vers le milieu du corps. Au point de rupture, se forment les crochets terminaux puis les deux éléments se détachent complètement. La durée de ce phénomène est variable : de 5 minutes à 1 heure (79). Quand la culture est trop vieille, les divisions sont incomplètes.

Il peut alors se former une longue chaîne (100 µ), correspondant à des dizaines d'individus encore réunis.

Il existe aussi des divisions anisotypiques dans lesquelles se forment des leptospires plus petits et attachés au corps mère par un filament spiralé. Sur ce filament, on peut noter la présence d'une formation sphérique, ultrafiltrable, capable de régénérer la forme typique et ce à n'importe quel âge de culture.

### 4. Résistance

#### a) Résistance dans les milieux de culture

Si au début de son étude le leptispire était considéré comme fragile dans les milieux artificiels, actuellement grâce à une connaissance plus solide de sa physiologie, le problème de sa résistance ne se pose plus. Une culture de leptospire *ictero haemorrhagiae* était encore vivante plus de 14 ans après l'ensemencement.

#### b) Résistance dans l'organisme

Les études sur la survie des leptospires dans les tissus des animaux morts ou abattus ne donnent pas de résultats concordants.

Pour certains auteurs, une culture à partir d'un broyat de foie de cobaye leptospirasique reste négative. Pour d'autres, les leptospires hépatiques resteraient virulents pendant 20 jours à 4°C. Le temps de survie des leptospires dans les tissus animaux est sûrement influencé par le pH *post mortem* et la concurrence bactérienne du cadavre. La survie dans la salive, l'urine, le lait, le foetus, le placenta, les sécrétions utérines dépend de la présence d'anticorps et des conditions physico-chimiques présentes.

Ces considérations seront approfondies dans le deuxième chapitre.

De toutes façons, il est acquis depuis longtemps que les bouchers, charcutiers, vétérinaires, etc. sont placés dans des conditions favorables à la contamination par les leptospires (maladie professionnelle).

c) Résistance dans le milieu extérieur

(1) Action de la température

Cette question a été fort approfondie. On trouve beaucoup de données éparses dans différents travaux. Il en ressort que la croissance est possible de 10°C à 20°C ; elle est plus intense à 25°C et optimale à 29°C. A 35-37°C, les leptospires sont plus fragiles et la lyse apparaît plus vite. Ces chiffres ont une valeur générale quel que soit le sérotype.

(2) Action du pH

Très tôt également, l'influence nocive d'une tendance trop acide a été remarquée. Actuellement, les limites de survie de différents sérotypes en fonction du pH sont bien connues. GORDON et coll. (36) ont étudié les effets du pH. L'incubation des différentes souches se fait à 27-31°C en chambre noire. Si deux examens de mobilité, à un jour d'intervalle, ne montrent pas de leptospires mobiles au bout de 10 minutes, ces auteurs considèrent qu'il n'y a plus de survie.

Les résultats sont les suivants

| pH | 5,3 | 5,7 | 5,9 | 6,2 | 6,5 | 6,8 | 7,2 | 7,4 | 7,6 | 8 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *L. ictero haemorrhagiae* | 12 | 11 | 12 | 12 | 13 | 12 | 22 | 81 | 90 | 69 |
| *L. hyos* | 18 | 16 | 16 | 22 | 30 | 44 | 34 | 36 | 54 | 58 |
| *L. autumnalis* | 69 | 82 | 83 | 87 | 93 | 90 | 86 | 96 | 103 | 123 |
| *L. javanica* | 12 | 16 | 16 | 39 | 93 | 90 | 91 | 115 | 130 | 86 |

Les limites de survie en fonction du pH sont donc assez étroites. Pour un pH trop bas, après une période d'immobilité et de rigidité pendant laquelle et pour un certain temps le phénomène est réversible, les leptospires meurent.

(3) Action d'autres agents physiques

Les leptospires ne résistent pas longtemps à une longue exposition à la lumière solaire (2). Les cultures de leptospires sont d'ailleurs entretenues en chambre noire. Ils ne survivent pas non plus à la déshydratation.

(4) Action des agents chimiques

De nombreux produits sont fatals aux leptospires. On peut citer le chlore, les détergents, le chloroforme, l'éther, l'acétone, etc.

Le produit le plus intéressant est le sulfate de Cu. En effet, la résistance au Cu est une propriété caractéristique des leptospires saprophytes, ce qui les oppose aux leptospires pathogènes sur lesquels l'influence nocive du $CuSO_4$ est très nette (29).

(5) Action des agents biologiques

Les leptospires sont détruits rapidement par le suc gastrique, les ferments protéolytiques, la bile et les acides biliaires.

Le contact d'un sérum antileptospires et de leptospires montre peu de temps après une agglutination des germes. Il y a une juxtaposition longitudinale des leptospires. Si l'action se prolonge, la lyse apparaît et la destruction devient totale.

(6) Action des antibiotiques

La plupart des antibiotiques ont une action destructrice sur les leptospires.

- La pénicilline inhibe la croissance des leptospires. Elle a un effet bactériostatique et bactéricide.
- La streptomycine a un effet inhibiteur. Elle est active sur les leptospires rénaux.
- L'auréomycine a un effet inhibiteur.
- La terramycine a un effet statique et inhibiteur. Employée à doses convenables, elle stérilise les porteurs de germe (100 mg/kg chez les souris).
- La chlortétracycline est active sur les leptispires du tissu rénal.

• Le chloramphénicol ne semble pas exercer d'effets dignes d'intérêt.

• L'érythromycine a un effet inhibiteur et lytique. Elle peut agir à faibles doses, même sur les leptospires rénaux.

Toutes ces considérations générales sur les caractères physico-chimiques et la résistance des leptospires laissent entrevoir les milieux préférentiels de vie du leptospire et régissent de ce fait directement l'épidémiologie de la maladie.

Nous retrouverons ces données dans la deuxième partie.

5. Activité antigénique

Très tôt, on a montré que les cultures des leptospires pathogènes pouvaient servir d'antigènes. CARLIFANTI (15) avait réalisé une technique d'agglutination macroscopique à partir d'une émulsion formolée de leptospires. En 1958, MURASCHI (60) montre qu'un mélange de suspensions de trois ou quatre sérotypes différents de leptospires tués peut constituer un mélange antigène à large spectre qui, combiné à des particules de latex, fournit un bon réactif pour la détection simple des anticorps.

En 1957, COX (19, 20) sensibilise au contact d'extraits de leptospires *biflexa* CDC, souche saprophyte, des hématies de mouton. Celles-ci s'agglutinent en présence d'un immunsérum antileptospires. Si l'on ajoute du complément, les globules rouges sont lysés. Cette réaction est spécifique du genre.

En plus de l'intérêt pratique, l'utilisation d'une souche saprophyte, qui donnait des résultats concordants avec les précédents, prouvait la présence d'un antigène commun du genre leptospira.

Donc, les antigènes fournis par les corps des leptospires ont pu être utilisés très tôt en sérologie et servir à des réactions d'agglutination, ou de fixation du complément. Mais le mérite de HIATT et ROTHSTEINN (38) est d'avoir étudié le problème de la constitution des antigènes. Ils décrivent le schéma suivant :

Les leptospires ont deux antigènes majeurs :

- l'antigène P (périphérique) constitué d'un polysaccharide lié à une protéine, responsable de la spécificité du type. Il a une propriété agglutinogène et de fixation du complément ;
- l'antigène S (somatique) constitué d'un polysaccharide lié à une fraction lipidique et une fraction résiduelle protéinique. Il est responsable de la spécificité du genre.

Les "fractions" antigéniques restantes ont été élucidées par FAINE (25). Il y aurait :

- un antigène H protéique "flagellaire" (du filament axial). Il joue un rôle agglutinant ;
- un antigène O (polyosidique) "somatique" de la paroi ;
- un antigène de surface (de l'enveloppe) de nature encore inconnue. Sa destruction ne permet plus d'obtenir la réaction d'agglutination lyse.

6. Pouvoir pathogène - Virulence

Si la structure antigénique du leptospire est constante, son pouvoir pathogène est beaucoup plus variable.

Le même sérotype peut provoquer une maladie inapparente pour un animal dans un endroit, et une forme sévère ailleurs. Ainsi, la leptospirose à *L. grippotyphosa*, anodine dans la plupart des pays est grave et fréquemment ictérigène en Israël et certaines régions de l'U.R.S.S.. Les leptospiroses à *L. Sejroë* et *L. Sax Koebing*, bénignes au Danemark, sont sévères et parfois fatales en Italie. Les exemples de ce type abondent.

En effet, les fluctuations du pouvoir pathogène, et l'existence de souches plus ou moins virulentes sont le fait d'influences diverses, ce qui explique les différences dans l'aspect et la gravité d'une même leptospirose selon les pays. La maladie est le résultat de nombreux facteurs inhérents à l'hôte et au germe, liés par les conditions écologiques environnantes.

Ceci peut être mis en évidence expérimentalement : par passages successifs sur les hamsters, la virulence de *L. pomona* est augmentée de façon considérable. Au 20e passage, tous les animaux meurent en 3 jours.

### III. - Milieux de culture

Les leptospires ne poussent pas sur les milieux de culture ordinaires employés en microbiologie, et c'est pourquoi dans les premiers temps leur culture était considérée comme difficile. Divers essais tentés pour composer un milieu convenable mirent en oeuvre des liquides naturels de l'organisme sans grand succès. C'est REITER et RAMME (66) qui donnèrent la clé de la culture des leptospires en utilisant le sérum de lapin ; leur milieu de culture est encore utilisé couramment. Cependant, l'utilisation du sérum est astreignante car il inhibe quelquefois la culture (s'il ne renferme pas ou pas assez d'activateurs). De plus, il peut renfermer des agglutinines antileptospires (lapins ayant été en contact avec les leptospires), de sorte qu'il faut dans un premier temps vérifier la séroneutralité du milieu de culture.

Les progrès faits dans l'étude des facteurs de croissance ont conduit à des essais de culture en milieu vitaminé. La vit. $B_{12}$ représente un facteur essentiel des cultures de leptospires saprophytes et actuellement, il existe des milieux d'essai sans sérum et chimiquement définis (53).

## B. - TAXONOMIE

### I. - Espèces

Des travaux récents ont montré que le genre *Leptospira* comprend plusieurs groupes biologiques qui se distinguent par leurs caractéristiques phénotypiques ou génétiques ; mais ni les groupes génétiques ni les autres groupes biologiques ne s'insèrent nettement dans le schéma de classification basé sur les agglutinogènes.

On peut envisager maintenant de classer les leptospires d'après leurs caractéristiques tant génétiques que phénotypiques.

### II. - Deux groupes

Un essai a été tenté pour subdiviser le genre *Leptospira* en deux espèces phénotypiquement définies (Congrès de Jérusalem, 1973) :

- l'une pathogène - parasite : *interrogans*
- l'autre saprophyte - aquicole : *biflexa*

Les tests phénotypiques sont en accord avec le groupe génétique. Quatre tests sont retenus :

- croissance à basse température (13°C),
- résistance à l'azaguanine,
- existence d'une lipase,
- étude de la paroi.

Les leptospires sont classés en sérogroupes, sérotype et souche. Actuellement, il existe 128 sérotypes classés en 22 sérogroupes. Par exemple, pour le sérogroupe *ictero haemorrhagiae*, il y a 13 sérotypes dont les deux sérotypes "chef de file" sont IH RGA / COPENHAGUENI. Le tableau des différents sérogroupes est présenté p. 18.

## C. - DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

### I. - Rappels physiopathologiques

Le choix des méthodes de diagnostic biologique est dicté par le cycle du germe dans l'organisme et la physiopathologie du leptospire. On peut distinguer deux phases. La première, caractérisée par une leptospirémie, et la seconde par une leptospirurie et formation d'anticorps ; c'est la phase immunitaire. Après leur pénétration dans l'organisme, les leptospires se multiplient dans le sang (septicémie plutôt que leptospirémie) et peuvent atteindre les différents organes et tissus. Dans la plupart de ceux-ci, les phénomènes de phagocytose et autres moyens de défense non spécifiques tendent à les faire disparaître. L'éradication des leptospires suivie de la récupération fonctionnelle est de règle.

| Sérogroupe | Nombre de sérotypes | Souche ou sérotype "chef de file" |
|---|---|---|
| *Ictero haemorrhagiae* | 13 | a) IH RGA<br>b) Copenhageni M 20 |
| *Javanica* | 6 | Poī |
| *Celledoni* | 2 | Celledoni |
| *Canicola* | 11 | a) Canicola<br>b) Schueffneri |
| *Ballum* | 3 | Mus 127 |
| *Pyrogenes* | 9 | Salinem ou Zanoni |
| *Cynopteri* | 1 | 3522 C |
| *Autumnalis* | 8 | a) Rachmat ou Bangkinang<br>b) Fort Bragg |
| *Australis* | 9 | Ballico |
| *Djasiman* | 3 | Djasiman |
| *Pomona* | 3 | Pomona |
| *Grippotyphosa* | 1 | Moscou V |
| *Hebdomadis* | 9 | Hebdomadis ou Borincana |
| *Sejroe* | 13 | Sejroe |
| *Mini* | 6 | Sari ou Swajizak |
| *Bataviae* | 8 | Van Tienen |
| *Tarassovi* | 11 | tarassovi Mitis Johnson |
| *Panama* | 3 | panama CZ 214 K |
| *Louisiana* | 2 | louisiana LSU 1945 |
| *Shermani* | 1 | shermani LT 821 |
| *Semaranga* | 4 | Veldrat Semarang 173 |
| *Andamana* | 2 | andamana CH 11 |
| 22 + | 128 + | |

Cette phase septicémique dure 9 à 10 jours. Le cas du rein est particulier. Après leur dissémination, certains leptospires atteignent les tubes contournés du cortex rénal, s'y installent et se multiplient dans la lumière ou leur excrétion est alors possible dans l'urine. C'est la phase de leptospirurie. Les phases de leptospirurie et d'immunité sont alors concomitantes. Les leptospires présents dans les tubules ne sont touchés ni par les anticorps circulants ni par ceux présents dans l'urine (25). Chez certaines espèces, un état d'équilibre s'installe. Les colonies présentes dans la lumière du tube contourné ne causent aucun dommage, il s'agit plutôt ici d'une relation symbiotique. Chez d'autres, les leptospires rénaux provoquent des lésions du rein (ainsi la néphrite interstitielle du chien provoquée par *L. canicola*).

La chronologie et les possibilités de diagnostic peuvent alors être schématisées ainsi :

temps 0 jours 8-9-10 jours 15 jours mois ans

| Phase septicémique | Phase immunitaire et de leptospirurie |
|---|---|
| DIAGNOSTIC DIRECT : Diagnostic bactériologique<br><br>Recherche du leptospire dans le sang et L.C.R.<br>- recherche directe<br>- culture<br>- inoculation à l'animal | DIAGNOSTIC INDIRECT : Détection des Ac par sérologie<br><br>Sérodiagnostic de dépistage<br>de typage (R.A.L.)<br><br>DIAGNOSTIC DIRECT<br><br>Recherche du germe dans<br>urines : - recherche directe<br>- culture<br>- inoculation à l'animal |

## II. - Diagnostic biologique

### 1. Diagnostic direct

a) Bactérioscopie directe : de 0 à 8 jours dans le sang et le liquide céphalo-rachidien, à partir de 15 jours dans l'urine. L'examen direct du sang pratiqué à l'aide d'un microscope à fond noir est exceptionnellement positif ; les leptospires sont difficiles à repérer parmi les hématies. Dans les urines, le résultat est aussi décevant. Les germes se lysent facilement ; de plus, se pose le problème du diagnostic différentiel avec les tréponèmes génitaux. En outre, il existe fréquemment des artefacts difficiles à différencier.

b) Cultures. Elles s'effectuent à partir du sang, du rein, du foie, de la rate et éventuellement du cerveau. La culture sur les milieux convenables permet de retrouver le germe. Des inhibiteurs de croissance des bactéries contaminantes respectant le métabolisme des leptospires doivent être utilisés. Cette culture est onéreuse et soumise à une série de manipulations spéciales. Il faut ensemencer plusieurs tubes inoculés avec des quantités variables de sang. Il est nécessaire de conserver les tubes 6 semaines à 30°C, d'où la lenteur des réponses.

c) Inoculation du germe à l'animal. On peut la pratiquer à partir du sang, du liquide céphalo-rachidien, de l'urine. Les animaux utilisables doivent être jeunes. On utilise de préférence le cobaye (*L. Ictero haemorrhagiae*), le hamster, la souris, le lapin. Les voies sont sous-cutanée, intramusculaire, intrapéritonéale, intraveineuse. La maladie expérimentale évolue jusqu'à la mort de l'animal en 10 à 12 jours, et les lésions caractéristiques seront observées à l'autopsie (hémorragie muqueuse, viscérale, splénomégalie et hépatonéphrite). Cependant, de nombreux sérotypes de leptospires ne sont pas pathogènes pour les animaux de laboratoire qui font une infection inapparente. Il faut alors faire pour ces animaux une hémoculture ou un sérodiagnostic vers le 15e ou 20e jour.

## 2. Diagnostic indirect : le diagnostic immunologique

Une atteinte de leptospirose donne une immunité solide et durable. Le sérum d'un sujet guéri contient des anticorps décelables : les agglutinines, les lysines, les précipitines, les hémaglutinines.

Les anticorps sont mis en évidence par la sérologie. C'est l'examen le plus pratique et le plus fidèle. De plus, il peut être pratiqué plusieurs fois dans le temps (à l'encontre des autres examens) et les réactions immunitaires sont spécifiques. C'est donc le sérodiagnostic qui est choisi de préférence.

On peut regrouper les réactions en deux chapitres : les réactions de dépistage et les réactions de référence (réaction macroscopique d'agglutination-lyse) qui sont quantitatives.

### 2.1. Les réactions de dépistage

En général, ces réactions manquent de sensibilité. Cette différence est due à la nature de l'antigène utilisé, car il est ici inactivé ou polyvalent. Ces réactions sont en fait utilisées comme test de présomption ou d'orientation.

#### a) La réaction de fixation du complément

Elle permet d'identifier avec un seul ou plusieurs antigènes un leptospire de n'importe quel sérotype. C'est une réaction de groupe. Mais l'impossibilité de préciser le sérotype en cause enlève au résultat le principal de sa valeur.

#### b) La réaction hémolytique et hémagglutination (19)

Les hématies de mouton sont sensibilisées avec un antigène (Ag H.A.). Après dilution des sérums à l'examen (1/10, 1/40, 1/80, 1/160), la lecture s'effectue après 3 heures de contact. Une réaction positive se traduit par une agglutination des globules rouges sensibilisés par l'Ag H.A..

Cette réaction est, elle aussi, une réaction de groupe.

#### c) La réaction par les anticorps fluorescents

Cette réaction est spécifique mais peu sensible. L'anticorps est révélé précocement et évolue de la même façon que l'anticorps fixant le complément.

d) Les réactions macroscopiques

La nécessité d'examens miscroscopiques de préparation peut être un obstacle. C'est pourquoi certains auteurs ont cherché à réaliser une réaction visible à l'oeil nu.

- la réaction macroscopique en tube : une réaction positive se traduit par des amas floculents ;

- la réaction macroscopique sur lames ; l'antigène utilisé est l'antigène T.R. C'est une préparation de leptospires traités par des procédés physiques. La spécificité du sérogroupe a disparu.

Cet antigène réagit avec le sérum malade quel que soit le sérogroupe infectant. Le mélange antigène T.R.-sérum, disposé sur une plaque en mouvement s'agglutine à la périphérie. La rapidité, la simplicité du travail, l'emploi d'un antigène stable, non infectieux sont les principaux avantages.

Toutes ces réactions sont utilisées dans un but de présomption ou d'orientation. Les sérums positifs ou douteux doivent être examinés avec la technique d'agglutination-lyse (R.A.L.) pour la détermination précise du sérotype en cause.

2.2. La réaction de référence : réaction d'agglutination-lyse (R.A.L.)

En 1918, MARTIN et PETTIT (56), en France, découvrent le principe du sérodiagnostic. La méthode utilisée met en jeu les propriétés lytiques et agglutinantes du sérum du malade pour le sérotype utilisé. Les anticorps apparaissent le 8e ou 10e jour. Le sérum à examiner est placé dans trois tubes ensemencés dont les dilutions sont de 1/10e, 1/100e et 1/1 000e, et un tube témoin. Après 2 heures à 37°C, la réaction est apparue. La lecture s'effectue au microscope à fond noir par examen d'une goutte d'un tube de plus haute dilution.

Résultats

— Réaction négative : On constate l'absence d'agglutination et de lyse à des dilutions inférieures au 1/100e.

— Réaction positive : Le sérum agglutine et lyse un sérotype donné à des dilutions supérieures ou égales à 1/1 000e. Ce sérodiagnostic est la preuve d'une infection récente ou en cours.

— Réaction douteuse : Il se produit une agglutination-lyse dans l'intervalle des dilutions à 1/100e et 1/1 000e.

Discussion

Ces réactions douteuses sont explicables soit par l'éventualité d'un phénomène de zone, soit par la présence de coagglutinine pouvant se manifester entre plusieurs sérogroupes. Ces coagglutinines sont fréquentes au début de la formation d'anticorps. D'autres prélèvements doivent alors être examinés au 20e-30e jour. Il faut aussi formuler des restrictions afin d'éviter des erreurs dans les deux sens.

Erreurs

Par défaut : Il s'agit d'un prélèvement trop précoce, de l'intervention d'un sérotype inhabituel, des variations individuelles dans l'aptitude réactionnelle, ou encore d'un silence sérologique.

Par excès : On peut constater la persistance d'agglutinines spécifiques de convalescence et d'immunisation ancienne.

Tout au début, cette méthode de diagnostic paraissait être très facile d'emploi. On ne connaissait qu'un germe (*L. ictero haemorrhagiae*), un malade (l'homme) et un porteur (le rat). Mais bientôt, ces différents éléments se multiplièrent et les problèmes se posèrent ainsi : quand le nombre de leptospires connus atteignit quelques unités, il fallut pour chaque sérum autant d'antigènes pour les sérodiagnostics que l'on connaissait de leptospires nouveaux en culture. Chaque série donnait beaucoup de réponses négatives parce que les souches n'étaient pas spécifiques des cas étudiés, et puis l'ensemble des manipulations était très compliqué et fastidieux, aussi bien pour la préparation que pour la lecture.

Afin de simplifier les manipulations, on a mélangé plusieurs sérotypes et fait intervenir une gamme d'antigènes plus étendue. La découverte d'un antigène du genre leptospira *L. biblexa patoc*, leptospire saprophyte aquicole, a permis l'adoption de la technique suivante : on mélange à parties égales les sérotypes.

A : *L. ictero haemorrhagiae* + *L. Canicola* + *L. Ballum*

B : *L. Australis* + *L. Grippotyphosa* + *L. Pyogenes S*

C : *L. Pomona* + *L. Hyos* + *L. Bataviae*

D : *L. Hebdomadis* + *L. Sejroë* + *L. Autumnalis*

E : *L. Biflexa Patoc*

Cet ensemble d'antigènes mélangés utilisé dès 1960 à l'Institut Pasteur ne représente que cinq manipulations pour le sérodiagnostic et chaque sérum est cependant mis en présence de douze sérotypes pathogènes. Si une agglutination-lyse se produit pour le sérum avec *L. Biflexa Patoc* et dans l'un seulement des groupes d'antigènes, le sérum en cause est alors étudié en présence de chaque sérotype séparément. Ceci réduit à trois le nombre des antigènes utilisés pour cette mise au point définitive.

Les anticorps anti-*Patoc* apparaissent assez tôt mais s'atténuent plus rapidement que les anticorps spécifiques. L'antigène-*Patoc* permet donc de dépister une leptospirose en évolution ; cependant, il n'existe aucun parallélisme entre le taux d'anticorps spécifiques et le taux d'anticorps anti-*Patoc*.

Il ne permet donc pas de repérer les animaux qui ont un taux d'anticorps spécifiques élevé. A la lecture, le point terminal de la réaction est la plus forte dilution du sérum laissant 50 % de leptospires libres.

En conclusion, le sérodiagnostic est une réaction pratique nécessitant une simple prise de sang, sûre, fidèle et d'une spécificité remarquable. En pratique, il faut retenir l'importance d'un titre significatif d'anticorps, la réactivité hétérologue au début de l'infection et la longue persistance d'agglutinine spécifique.

## Deuxième Partie : DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES

Si, au début, la leptospirose animale n'était tenue que pour une maladie d'importance mineure, son rôle est clairement établi aujourd'hui, tant sur le plan économique que sur le plan sanitaire ou hygiénique.

La connaissance de l'épidémiologie représente sans doute le chapitre le plus important de l'histoire des leptospiroses. Le problème s'est posé dès la découverte du germe et est devenu de plus en plus complexe à mesure que l'on a découvert de nombreux sérotypes, de nouveaux vecteurs, et qu'ont été mises en oeuvre des techniques plus perfectionnées pour l'étude des conditions de vie du germe. Si l'origine des épidémies a d'abord été attribuée aux rats, le rôle du milieu extérieur et celui des animaux domestiques et sauvages dans la dissémination du germe, a pris une importance grandissante : pratiquement, pour chaque sérotype, il existe dans une région donnée un hôte principal ; à partir de ce réservoir, peut se répandre l'infection à d'autres animaux ou occasionnellement à l'homme. Bien plus, les différentes formes de leptospirose, qui revêtaient selon les contrées des "noms locaux" ont un dénominateur commun : les conditions favorables de survie de l'agent. Enfin, cette maladie peut être inapparente chez certaines espèces et revêtir une forme clinique chez d'autres.

Tous ces points seront repris dans le premier chapitre de cet exposé. L'étude de la répartition géographique, de la fréquence et du cycle fera l'objet du second.

### A. - DONNEES ANALYTIQUES

#### I. - Les sources

Il est nécessaire de définir ce que l'on entend par le mot "porteur". On doit faire la distinction entre le porteur temporaire et occasionnel de leptospires et le porteur permanent : le réservoir.

Dans le premier cas, il s'agit d'un animal qui présente, ou a présenté, des signes cliniques de maladie. Pendant cette période, il y a une leptospirurie constante, qui pourra se prolonger longtemps après la fin de la maladie mais seulement pour une période limitée (quelques semaines ou quelques mois). Cet hôte temporaire peut constituer une source d'infection, mais son importance épidémiologique est relativement limitée, d'abord parce que la leptospirurie cesse après un certain temps, mais aussi parce qu'il est accessible aux mesures prophylactiques appropriées.

L'état du porteur permanent est différent. Il s'agit d'un animal qui a été infecté par les leptospires et qui a pu cependant ne pas présenter de signes cliniques. Il demeure alors porteur tout le reste de sa vie. C'est ce porteur réservoir qui permet la survie des sérotypes différents de leptospires et qui constitue la source la plus dangereuse.

Nos connaissances sur les animaux porteurs habituels ou proches de l'homme ont fait l'objet de nombreuses mises au point. Par contre, quand on découvre des leptospires dans les reins ou dans l'urine d'animaux plus rares ou plus farouches, on se heurte au problème de savoir s'il s'agit d'hôtes permanents ou occasionnels.

En pratique, l'importance des porteurs dépend de deux facteurs :

- le premeir tient à la survie et à l'excrétion de l'agent causal chez l'animal porteur. Nous rappelons que le lieu d'élection du leptospire chez son hôte est le tube contourné proximal du cortex rénal et que donc la principale source d'élimination est l'urine. L'urine est alors un milieu d'excrétion et non d'entretien. Les leptospires sont très sensibles aux variations de pH. Les animaux qui ont une urine acide n'hébergent que des leptospires tués ou incapables de reproduire la maladie. Ces animaux, quoique porteurs, ne sont donc que peu ou pas contagieux. Cependant, les leptospires peuvent survivre une très courte période dans des conditions défavorables. C'est pourquoi un animal dont le pH urinaire est acide peut être dangereux si l'urine est aussitôt mélangée à l'eau ou à de la boue neutre ou légèrement alcaline. C'est la dilution qui, ici, crée le danger.

Mais le pH urinaire varie considérablement avec le régime alimentaire. Ainsi, un chien ayant une alimentation essentiellement carnée a une urine acide, fatale aux leptospires, mais une alimentation mixte alcalinise l'urine qui peut ainsi contenir des formes vivantes de leptospires pendant plus de 4 ans (50). Le rat a une urine dont le pH est de 7, très favorable à la survie du leptospire (84). On a constaté une leptospirurie de 4 mois chez les bovins, 3 mois chez les équins (82), 9 mois chez les ovins (81) et 6 mois chez les porcins.

En dehors du pH, il existe aussi d'autres facteurs nocifs pour la survie des leptospires. Dès 1936, DAVIDSON et SMITH (22) ont montré la présence d'anticorps spécifiques, les agglutinines et lysines spécifiques dans les urines.

- Le deuxième point est lié au mode de vie de l'animal. Selon qu'il s'agit d'un animal grégaire ou non, solitaire ou vivant en bandes, habitant d'une région désertique ou cultivée, d'un animal sauvage ou familier, il est facile de comprendre que son rôle épidémiologique sera variable.

## 1. Les réservoirs : les rongeurs

Pour VAN DER HOEDEN (39), les rongeurs seraient les hôtes normaux des leptospires. Leur sensibilité naturelle à la maladie est faible ; ils demeurent bien portants et ils excrètent des leptospires.

### - Le rat

Le rat est l'exemple habituel du transporteur. Il peut être contaminé très jeune et reste un réservoir pratiquement toute sa vie. De plus, cet animal est très répandu et a des contacts étroits avec l'homme. Pratiquement, 90 % des rats seraient porteurs de *L. ictero haemorrhagiae* (77), ce qui permet d'expliquer la diffusion de ce sérotype qui domine les autres en nombre et en importance clinique. La plupart des rats sont d'ailleurs des porteurs sains.

| | | |
|---|---|---|
| *Rattus Norvegicus* : | *L. ictero haemorrhagiae* | tous pays |
| | *L. Bataviae* | Europe, Indonésie, Porto Rico |
| | *L. Javanica* | Indonésie |
| | *L. Pomona* | Italie, Portugal |
| | *L. Ballum* | Italie, Espagne, U.S.A., Canada |
| | *L. Canicola* | U.R.S.S. |

| | | |
|---|---|---|
| *Rattus Rattus* (rat noir) : | *L. ictero haemorrhagiae* | tous pays |
| | *L. Automnalis* | Malaisie |
| | *L. Pyogenes* | Australie, etc |

— La souris

| | | |
|---|---|---|
| *Mus. Musculus* : | *L. Ballum* | Europe, Danemark, Tchécoslovaquie, U.S.A., Israël |
| | *L. Pomona* | U.R.S.S. Tchécoslovaquie |
| | *L. Sejroë* | Danemark |
| | *L. Saxhoebing* | U.S.A., Canada |
| | *L. Hebdomadis* | U.S.A., Canada, etc. |

d'après J. VAN DER HOEDEN (39)

— Les autres rongeurs

Le campagnol, la gerbille, l'écureuil, le lapin, le lièvre, le hamster... sont aussi des réservoirs universellement répandus.

2. Les vecteurs

2.1. Les vertébrés

a) Les poissons. - ALTAVA, BARRERA et VILLALONGA (données non publiées) ont cherché sans succès les leptospires chez *Gambusia* ; mais les poissons peuvent être infectés expérimentalement (51).

b) Les batraciens et les reptiles. - Ils peuvent héberger les leptospires ; en particulier, les tortues (9) et les serpents d'eau (41).

c) Les oiseaux. - Des infections expérimentales avec *L. Pomona* ont été pratiquées avec succès sur le poulet (7), le canard, le faisan et la pintade (16). BABUDIARI et BUSSELINO (4) ont trouvé *L. Bataviae* dans l'intestin d'oiseaux migrateurs dans les rizières de la vallée du Pô. Il peut être possible cependant que ces oiseaux se soient infectés en ingérant *Microys Minutus sorcinus*, souris très fréquentes et porteuses de *L. Bataviae*. La présence de leptospires chez les oiseaux migrateurs serait d'une grande importance épidémiologique en raison des distances qu'ils parcourent.

d) Les mammifères. - Les leptospires, bien que pouvant contaminer d'autres espèces animales, sont sans aucun doute les parasites des mammifères.

- Mammifères sauvages
  - Insectivores : hérisson, musaraigne, marmotte, taupe sont porteurs de leptospires
  - Carnivores : chien sauvage, renard, chacal, mangouste, civette, skunk, furet, putois, blaireau sont également des hôtes de ces germes
  - Marsupiaux : bondicoot, opossum
  - Artiodactyles : daim, cerf
  - Cheiroptères : ils hébergent aussi divers sérotypes...

- Mammifères domestiques

- Le chien : La diffusion des leptospires chez le chien est très élevée. Il s'agit essentiellement de *L. Canicola* et de *L. Ictero haemorrhagiae*. De plus, le chien peut être l'hôte de *L. Gripotyphosa*, *L. Sejroë*, *L. Australis*, *L. Pomona*, *L. Automnalis*, *L. Bataviae*.

Le chien peut être porteur de 2 à 6 mois (11). Mac INTYRE (50) a même retrouvé des leptospires pendant 4 à 5 ans. De plus, la miction du chien est très fréquente, ce qui constitue un facteur de diffusion important.

- Le chat : Bien que théoriquement souvent en contact avec les rats et les souris, le chat est peu porteur. Cependant, GAUB (données non publiées) met en évidence *L. Hebdomadis* en Alaska et KLARENBEEK (48) *L. Canicola* en Hollande.

- Le porc : Le porc est porteur de *L. Pomona*, de *L. Hyos* et de *L. Ictero haemorrhagiae*. Le porc reste porteur pendant 1 an (73) et peut éliminer une grande quantité de leptospires (6 mois à 1 an). Il peut être aussi vecteur de *L. Canicola* (18).

- Les bovins : Les bovins malades causent une perte économique considérable. Les animaux malades restent infectants pendant longtemps. La leptospirurie est très élevée (100 millions/cm$^3$) (32). Les bovins sont essentiellement porteurs de *L. Ictero haemorrhagiae*, de *L. Australis*, de *L. Grippotyphosa*,

de *L. Pomona*, de *L. Hyos*, accessoirement de *L. Canicola*, de *L. Hebdomadis*, de *L. Bataviae*, de *L. Ballum*, de *L. Automnalis*. La leptospirurie de *L. Pomona* est de 4 mois au moins.

- Les ovins : Ils peuvent héberger *L. ictero haemorrhagiae*, *L. Pomona*, *L. Grippotyphosa* et *L. Hyos*. L'élimination des leptospires peut se poursuivre pendant 9 mois (81).

- Les chevaux : Ils sont réceptifs à *L. Ictero haemorrhagiae*, *L. Australis*, *L. Grippotyphosa*, *L. Pomona* et plus souvent à *L. Hebdomadis*, *L. Ballum*, *L. Canicola*, *L. Bataviae*. L'élimination des leptospires se fait chez cette espèce plus rapidement (3 mois).

En définitive, on peut, sans risque, prédire que la liste aujourd'hui établie s'agrandira et que les sérotypes des animaux atteints se préciseront. Les situations connues ne sont pas pour autant irréversibles car les modifications écologiques et les variations de virulence entraîneront des relations différentes. "Dans ce cas les transporteurs potentiels d'aujourd'hui pourront se transformer en excréteurs chroniques qui constitueront demain un réservoir principal". (37).

### 2.2. Les arthropodes

En 1916, REITER et RAMME (66) montrèrent la transmission mécanique des leptospires au cobaye par *Haematopta pluviales*.

Les tiques peuvent héberger au moins 5-8 jours *L. Ballum* (14). BLANCHARD, LEFROU et LAIGRET (10) ont isolé des leptospires chez les punaises. Celles-ci peuvent adhérer aux proboxys des mouches. BURDORFER (14) constate la multiplication pendant 5 jours de *L. Pomona* sur l'*Ornithodurus Turricata*.

Les Argasides ont été infectés expérimentalement et l'infection peut se transmettre aux oeufs.

Les leptospires peuvent survivre plus de 26 heures dans le tube digestif de *Musca Lucilia*. Si ces espèces ne sont pas un facteur de diffusion important, elles n'en constituent pas moins une source, peu ou pas modifiée par les conditions atmosphériques.

## 2.3. Survie des leptospires dans le milieu extérieur

### a) Survie dans l'eau (cf. page 9)

L'étude de la survie des leptospires dans diverses conditions physiques et chimiques a été particulièrement approfondie. Il existe des différences entre les divers sérotypes et surtout entre les leptospires pathogènes et saprophytes. STONER (75) a démontré l'impossibilité de vie du leptospire dans un milieu sec ; l'eau leur est si indispensable qu'on a pu les qualifier de germes aquicoles.

— Influence de la température, du pH et de la salinité

Ces caractères physiques revêtent une grande importance pour le développement ou la survie des leptospires. Une étude précise (36) a établi des durées de vie des souches de leptospires *Ictero haemorrhagiae* en eau distillée tamponnée à pH varié :

| pH | 5,3 | 5,7 | 5,9 | 6,2 | 6,5 | 6,8 | 7,2 | 7,45 | 7,68 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Temps (jours) | 12 | 11 | 12 | 12 | 13 | 12 | 22 | 81 | 90 |

A un pH trop bas, les germes s'immobilisent, deviennent rigides et meurent. En général, un pH neutre ou peu alcalin favorise la survie des leptospires. Le saprophyte a une fourchette de pH plus large. Ce degré de variabilité des leptospires dans ses rapports avec la température de l'eau est aussi grand qu'en ce qui concerne le pH.

Les conditions optima pour la multiplication sont réalisées quand la température est de 25-30°C (multiplication des germes, qu'ils soient pathogènes ou saprophytes). Mais ZUELZER (84) a isolé des souches dans des sources à 40-50°C et dans de la glace. En plus du pH et de la température, la concentration des sels a une influence sur la croissance des leptospires. La survie est de 10 jours pour de l'eau contenant 40 mg/l de chlore, mais moins de 24 heures pour l'eau contenant 1 300 mg/l. C'est sans doute pour cette raison qu'il n'existe pas de leptospires d'eau marine.

— Surface et profondeur, courants

Les leptospires se localisent préférentiellement dans les eaux stagnantes. La turbulence de l'eau claire entrave la propagation, mais l'eau fortement souillée de substances organiques est aussi peu favorable au leptospire.

— Facteurs biologiques : influence de la flore

On a constaté que certaines souches bactériennes permettent une meilleure croissance des leptospires. Il s'agit essentiellement de *E. coli* car celui-ci produit un facteur de croissance : la vitamine $B_{12}$. D'autres bactéries produisent aussi des métabolites utiles : c'est ce qui explique l'abondance des leptospires dans certaines eaux.

Les leptospires s'établissent essentiellement dans de l'eau peu ou pas polluée par les matières organiques. Ils ne peuvent pas vivre quand l'eau est totalement privée d'$O_2$. Ils se localisent dans la zone où commencent les phénomènes d'oxydation avec production de composés ammoniacaux et d'$O_2$ à partir des protéines végétales. De sorte que dans les eaux très contaminées (eaux d'égouts par exemple), les leptospires vivent quelques heures seulement ; après dilution dans l'eau de pluie, la survie est considérablement augmentée (54).

b) Survie dans le lait

KIRSCHNER, MILLER et GARLICK (47) ont démontré que les leptospires survivent peu de temps dans le lait pur (3 heures), mais se maintiennent environ 2 mois dans du lait dilué au 1/20e avec de l'eau. Il existe ici aussi des anticorps spécifiques (agglutinine et lysine) (40, 72).

c) Survie dans l'urine

L'urine est le milieu préférentiel d'excrétion des leptospires. Les conditions de survie dans l'urine ont été étudiées page 27.

Nous rappelons, ici aussi, que la survie est liée aux variations de pH et à la présence d'anticorps.

d) Survie dans les cadavres

BERNKOPF (6) trouva des leptospires dans le cadavre d'un animal porteur 33 heures après sa mort. Mais dans d'autres cas, les leptospires moururent ou perdirent leur virulence plus rapidement. BRYAN (13) trouva *L. Pomona* dans le cadavre d'un foetus d'un porcelet plusieurs jours après l'avortement. La survie des leptospires dépend vraisemblablement du pH du cadavre et de l'action antagoniste des contaminations microbiennes. Les leptospires présents dans les tissus peuvent par ailleurs présenter une virulence accrue par rapport à leur virulence initiale. Les avortons, le placenta et les sécrétions utérines d'animaux atteints peuvent conduire à une contamination indirecte par intermédiaire du sol ou de l'eau.

e) Survie dans la salive

Il n'est pas prouvé, malgré les expériences de SCHLUZE (74), que la salive d'animaux porteurs contienne des leptospires pathogènes. Cependant, il n'est pas à exclure que la salive du chien soit un moyen de transmission. MELNOTTE (57) attira l'attention sur la possibilité de contamination de la salive à la suite du léchage par le chien de ses urines ou de ses organes génitaux.

En conclusion, la survie des leptospires dans le milieu extérieur est liée à de nombreux facteurs. Les limites de pH, de température et de salinité sont étroites ; la concurrence de certaines bactéries leur sont néfastes ; la présence d'anticorps spécifiques du lait et de l'urine contribue aussi à leur destruction. Mais seule l'étude des conditions physico-chimiques permet d'expliquer les conséquences épidémiologiques et de situer le milieu préférentiel de vie du leptospire (voir page 37).

## II. - Les facteurs de réceptivité

Nous étudierons ici l'influence de l'espèce, puis de la race, du sexe, de l'âge et enfin l'influence d'une infection concomitante.

### 1. Influence de l'hôte et du sérotype

Si quelques sérotypes ont une préférence pour un hôte particulier (dit "primaire"), la plupart peuvent infecter plusieurs espèces animales ; inversement, chaque espèce animale peut être atteinte par plusieurs leptospiroses (82). Ainsi, *L. Canicola* qui fut longtemps tenu pour être l'hôte du chien uniquement a été isolé du bétail (76), du chacal et du hérisson (41), du raton laveur (65), du porc (80). Inversement, le chien peut abriter 9 sérotypes.

De plus, l'hôte essentiel d'un sérotype peut être ici un animal déterminé et un autre animal dans une autre zone géographique (58). Ainsi, les bovins sont surtout infectés par les *L. Pomona* aux U.S.A. et *L. Australis* en France. Il peut arriver aussi qu'un vecteur occasionnel (dit "secondaire") devienne dans une autre région le vecteur "primaire".

En définitive, il semble vain de vouloir attribuer à chaque sérotype un réservoir particulier et exclusif. La liste des animaux porteurs est pratiquement inépuisable ; quant à la distribution géographique des espèces animales infectées, elle est à peu près universelle.

### 2. Adaptation à l'hôte

La recherche des porteurs de germes parmi plusieurs espèces a montré souvent une relation avec leur position phylogénétique. Les rongeurs, les petits carnivores, les marsupiaux semblent bien adaptés aux leptospires. Ils ne font pas de maladie apparente mais sont vecteurs pratiquement toute leur vie (43) Ces animaux qui, à cause de leur faible sensibilité naturelle, demeurent indemnes, seraient des "hôtes normaux".

Les animaux domestiques sont moins bien adaptés. Une infection clinique apparente révèle l'infection et la leptospirurie est limitée dans le temps. Dans ce large réservoir, la proportion d'animaux infectés n'a pas de parallélisme avec le nombre d'animaux sensibles. L'importance épidémiologique de chacune des espèces infectées est très inégale (voir chapitre "Morbidité - Mortalité").

Il pourrait exister aussi des "seuils" de doses infectantes variables selon les espèces. Ainsi, les bovins et l'homme se contaminent facilement au contact du porc. La contamination du porc et de l'homme (par les mêmes sérotypes) est rare au contact des bovins et des canins, peut-être aussi à cause des faibles inoculums excrétés par eux.

### 3. Influence de la race

Certains auteurs considèrent que les facteurs génétiques tiennent un rôle important. MORTER et MORSE (59) observèrent, après une infection expérimentale par *L. Pomona* à des veaux, que 3 veaux Hereford développèrent une forme aiguë (2 moururent), alors que les veaux d'autres races présentèrent des signes discrets de la maladie.

STOENNER et Coll. (75) diagnostiquèrent la leptospirose plus fréquemment dans les troupeaux de bêtes à viande que chez les laitières.

Mais les différences d'élevage, d'alimentation et de soins apportés aux animaux peuvent modifier les risques d'exposition aux leptospires (la leptospirose humaine est de même une maladie professionnelle). Il en est de même entre les chiens "d'appartement" et les chiens de troupeau qui sont en contact permanent avec un environnement contaminant.

### 4. Influence du sexe

Le sexe ne semble jouer aucun rôle. Si l'homme est préférentiellement atteint, c'est parce que les professions concernées sont essentiellement masculines. Chez les baigneurs, le pourcentage est identique.

5. Influence de l'âge

La sensibilité est liée à l'âge. La mortalité chez les jeunes est en effet plus importante (cf. chapitre "Morbidité - Mortalité").

6. Influence des infections concomitantes

Une augmentation de la sensibilité d'un organisme à la leptospirose peut être provoquée par une infection microbienne ou virale précédente ou concomitante. Ainsi, GOCHENOUR et coll. (33) décrivent une épidémie particulièrement aiguë chez des porcs sur lesquels fut isolé simultanément *Salmonella sui pestifer*.

## III. - Modes de transmission

1. Contact indirect

C'est la contamination la plus fréquente. Les intermédiaires sont l'eau, la boue, la végétation, l'alimentation contenant des leptospires excrétés par l'urine d'un animal porteur.

La contamination peut s'effectuer à travers les muqueuses conjonctivales, du nez, de la bouche ou à travers les excoriations et les érosions cutanées. Le pH acide de l'estomac détruit rapidement les leptospires ingérés, mais des lésions des voies supérieures (buccales, pharyngiennes, oesophagiennes) peuvent permettre ce passage (2).

2. Contact direct

a) Les morsures de rats, souris ou autres animaux porteurs qui se seront léchés la fourrure ou les organes génitaux, souillés par l'urine.

b) Contact vénérien. Ce mode est important, surtout chez les rongeurs, mais peut survenir chez les animaux domestiques. Des leptospires ont été trouvés dans la semence des taureaux et peuvent être transmis par l'insémination artificielle ou le coït.

c) Contact transplacentaire. L'infection du foetus *in utero* est démontrée chez les animaux domestiques et peut apparaître aussi chez les humains (17).

d) Prédation. Cette voie est possible chez les animaux qui ingèrent des rongeurs. Enfin, le mode de contagion par l'intermédiaire d'arthropodes doit être signalé. Les leptospires peuvent être véhiculés par les mouches *Musca lucilia* par exemple) et excrétés par les fèces.

## B. - DONNEES SYNTHETIQUES

### I. - Répartition géographique

Parce que la leptospirose a d'abord été découverte au Japon et étudiée en Extrême-Orient, elle fut d'abord considérée comme une maladie tropicale. Aujourd'hui, sa répartition est mondiale ; l'universalité de *L. ictero haemorrhagiae* est remarquable. La connaissance de l'épidémiologie nous a montré l'importance des animaux porteurs et du secteur hydrique dans la transmission de la maladie. Le rôle des animaux n'est plus à prouver : l'exemple de la "maladie des porchers" qui atteint les nouveaux employés des porcheries en est la démonstration la plus frappante. Le rôle primordial de l'eau est lui aussi connu. Les épidémies causées par les leptospires aquicoles sont nombreuses et variées : la première épidémie française fut observée dès 1924 par RAILLET après des baignades dans le Vesle près de Reims. Mais, bien souvent, le rôle de l'eau et des animaux sont intriqués. L'existence d'une épizootie peut être due à un grand changement des conditions climatiques environnantes qui deviennent plus favorables à la survie des germes et à leur dissémination. Ces conditions déterminent d'ailleurs le peuplement et la multiplication des petits vecteurs sauvages.

C'est ainsi que l'étude de véritables "micro-climats" d'une région donnée est essentielle à la compréhension d'une épidémie ou de nombreux cas isolés. Les conditions météoro-climatiques les plus favorables pour les leptospires se résument à :

- une température égale ou supérieure à 20°C,
- une forte hygrométrie,
- une rosée matinale permettant la survie des germes éliminés par les animaux,
- un sol ou des eaux faiblement alcalins soit naturellement soit par fermentation ammoniacale (marais par exemple),
- un ensoleillement limité.

Les épidémies survenues dans les mines montrent par excellence que la réunion de tous les facteurs favorables déclenche l'éclosion des leptospiroses. C'est d'ailleurs dans une mine qu'au Japon, IDO et coll. rapportent le premier cas en 1917. Le sol alcalin, la boue, l'eau, la température ambiante variant peu, l'obscurité, la présence de rats expliquent alors l'endémicité de la maladie.

On peut donc dresser la liste des endroits les plus exposés :

- les marais, les vases, les boues. Ceci explique les anciennes dénominations "fièvre des marais", "Schlamm, Feld , Fieber"... fièvre de tel ou tel pays ;
- les rizières, les eaux tièdes ou stagnantes à fond plus ou moins boueux ;
- les plantations de canne à sucre irriguées ;
- les lieux où l'eau coule et surtout stagne : les égouts, les laiteries, les étables, les porcheries, les abattoirs, les tanneries... ;
- les rivières à faible courant, les canaux, les lacs...

La connaissance des lieux préférentiels contribue d'une part à classer les leptospiroses dans la catégorie des maladies "professionnelles" (les mineurs, les employés agricoles dans certaines régions, les employés de tannerie ou d'abattoirs...) mais surtout à prendre des mesures prophylactiques efficaces en agissant non seulement sur l'agent causal, mais aussi et surtout sur ses conditions météoro-climatiques environnantes.

## II. - Morbidité - Mortalité

Dans la plupart des manifestations d'épidémie de leptospiroses, une grande partie des animaux infectés ne présente pas de symptômes, même quand leur taux d'anticorps augmente. Chez les humains en revanche, il arrive rarement qu'une personne ayant un sérodiagnostic positif ne soit atteinte ou n'ait été touchée auparavant.

Néanmoins, la transmission du leptospire à l'homme semble être limitée : il faut pour que la maladie humaine se déclare des conditions particulières.

Ainsi, en 1949-1950, lors d'un accroissement extraordinaire des rongeurs de type *Microtus Guentheri* dans la plaine côtière au nord de Tel Aviv, le nombre de cas de leptospiroses humaines à *L. Grippotyphosa* fut multipliée par 17 (42).

De même, le risque lié au contact hydrique se multiplie selon certaines conditions : BABUDIERI (5) a montré le grand nombre d'infections chez les personnes (les "mondines") travaillant dans les Rizières du Pô, où les conditions de survie du leptospire leur sont avantageuses : température de 25-30°C, pH d'environ 7,2.

La fréquence élevée des cas en été, qui se traduit par un véritable clocher sur les graphiques annuels est due aux bains de rivières, lacs ou étangs (52). Il en est vraisemblablement de même pour certains animaux en contact avec une eau contaminée.

Inversement, au cours de l'épidémie survenue sur les chiens de l'armée d'Israël, aucun des 38 soldats qui en avaient la charge ne contracta la maladie ou ne produisit d'anticorps (41). En Autriche, seulement 2 personnes auraient été atteintes (sur plus de 2.000 examinées) lors d'une épidémie à *L. Canicola* qui toucha 7.370 chiens.

Chez les animaux domestiques, les études de morbidité et mortalité ont été l'objet de mises au point détaillées dans toutes les régions du monde. Chez les ovins par exemple, l'infection naturelle serait relativement rare.

Cependant, en moyenne, 30 % des animaux ont un sérodiagnostic positif. Quand la maladie se déclare, la mortalité est très élevée : de 20 à 70 %. Chez les bovins également, bien que tous les animaux d'un même troupeau soient exposés de façon identique, certains d'entre eux ne sont pas atteints. On trouve généralement 20 à 30 % des animaux faisant une réaction sérologique positive. Quand la maladie se déclare, la forme aiguë représente 10 % des cas. La mortalité est à peine 5 % des animaux adultes, mais peut atteindre 25 % chez les jeunes (83).

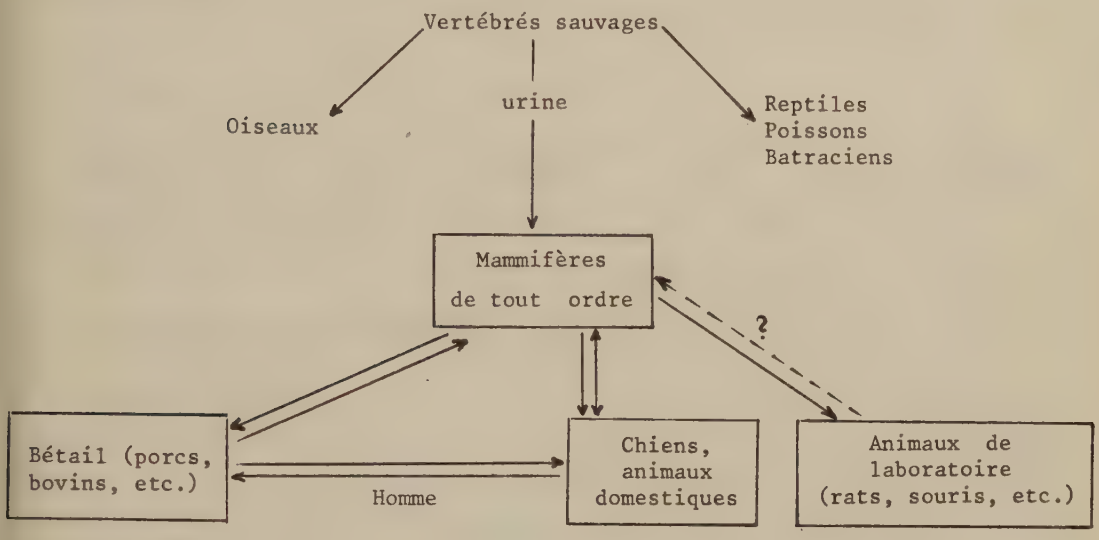
Chez les animaux sauvages, *Rattus Norvegicus*, porteur universel de *L. Ictero haemorrhagiae*, ne présente aucun signe pathologique. Ceci résulterait de "l'adaptation" du germe à l'organisme de l'hôte ; les germes se multiplient sans causer de sérieux dommages (12). D'après OSTERTAG (63), 95 % des rats de Strasbourg seraient porteurs de ce sérotype. Sur toute la population qu'il observait, seul un rat mourait de la maladie.

## III. - Cycle de transmission

Dans certaines conditions, la place prépondérante dans l'épidémiologie de cette maladie revient aux animaux porteurs et excréteurs de leptospires (Van der HOEDEN). Pour d'autres auteurs (67), le rôle des animaux est minime par rapport aux mécanismes de transmission par l'eau qui est d'une importance primordiale.

Mais si d'un côté les animaux et de l'autre côté l'eau peuvent être des causes uniques de transmission, bien souvent, ces deux facteurs sont mêlés : les déjections d'animaux souillent le sol humide, l'eau, etc. au contact desquels d'autres animaux peuvent se contaminer. Le rôle de l'eau et des animaux se complètent donc mutuellement.

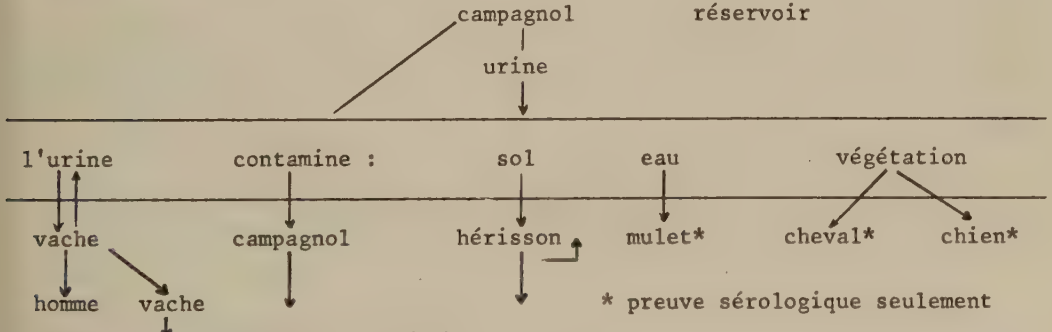
On peut donc donner le cycle général suivant (76) :




L'homme n'est qu'un anneau exceptionnel dans la chaîne de diffusion (4). Il ne peut y avoir à proprement parler d'épidémies humaines, mais une très grande accumulation de cas isolés sans connexions mutuelles (anadémie).

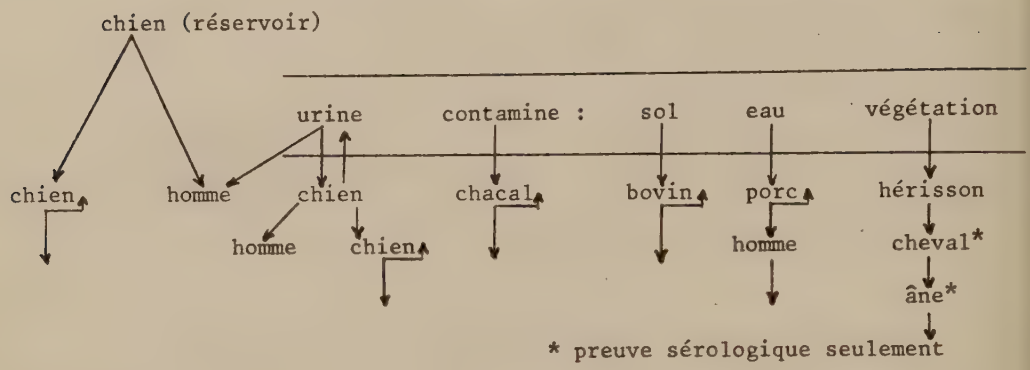
Ce schéma grossier peut être précisé par l'étude de deux exemples :

a) Le cycle d'infection leptospirosique est plus complexe qu'on ne le croyait naguère. Un exemple peut être donné avec le campagnol et *L. Grippotyphosa* en Israël.




d'après Van der HOEDEN, 1955 (42)

b) Un autre exemple avec *L. Canicola* en Israël :




CONCLUSION

La compréhension du mode de transmission du leptospire nécessite un dossier épizootiologique complet, sinon l'on risque une interprétation erronée des faits.

La leptospirose est transmise d'animal à animal directement ou indirectement. Si dans chaque région, il existe des vecteurs bien déterminés, selon certaines conditions, un vecteur "secondaire" peut prendre le pas sur le vecteur principal.

Suivant les climats et les régions, la chaîne épidémiologique peut être différente. Les notions de maladie professionnelle et l'infection des animaux domestiques sont déjà des faits de grande importance. Il faut aussi penser à l'immense réservoir constitué par les rongeurs et autres mammifères sauvages et au rôle de l'eau d'autant plus capital que le régime hydrographique est important.

## Troisième Partie : ENQUETES DANS QUELQUES ETABLISSEMENTS DU MORBIHAN DONNEES CLINIQUES ET SEROLOGIQUES

Depuis sa découverte, la leptospirose n'a cessé de susciter la curiosité des chercheurs et l'intérêt des praticiens, d'autant plus qu'étaient prouvées les possibilités de transmission à l'homme.

Sachant qu'une recherche d'anticorps antileptospires était effectuée sur une partie de la population agricole du Morbihan par l'Institut Pasteur, il nous a semblé intéressant d'essayer d'élargir ce travail par la même étude sur un effectif bovin et équin. Ayant obtenu l'accord du Directeur du Haras d'Hennebont et du Vétérinaire du Haras Militaire de Coëtquidan, nous avons pu tester l'ensemble des chevaux des deux établissements. Une enquête sur le personnel y avait été effectuée auparavant. Quant aux bovins, à l'occasion des opérations de prophylaxie de fièvre aphteuse et ayant été amené à exercer dans cette région, nous avons pu, sans difficultés, obtenir l'accord des différents éleveurs.

De nombreuses recherches sérologiques, tant sur les bovins que sur les équins ou humains, ont déjà été réalisées et bien souvent sur de plus larges échelles. Mais l'intérêt ici, pour les chevaux, tient au fait qu'il s'agit d'établissements "fermés" et que tous les animaux ainsi que le personnel ont été testés.

En effet, les chevaux du Haras de Coëtquidan ne sortent que pour des promenandes à l'intérieur du camp militaire, ceux d'Hennebont ne sortent que pour des montes dans d'autres établissements similaires répartis dans la circonscription.

Les relations entre les chevaux d'une part et les humains en contact d'autre part, sont très étroites. Il était donc intéressant de comparer les résultats des sérodiagnostics avec ceux habituellement obtenus et de vérifier la séroneutralité humaine.

Après un bref rappel des données cliniques chez l'homme et chez les animaux (bovins, équidés), nous exposerons les résultats de notre enquête.

## A. - DONNEES CLINIQUES

### I. - Symptomatologie générale des leptospiroses

#### 1. Aspect clinique de la leptospirose humaine

Les caractères généraux des leptospires sont regroupés de la façon suivante (58) :

a) Signes fondamentaux

- syndrome infectieux et fébrile (hyperthermie),
- syndromes algiques (myalgies, arthralgies intenses, ostralgies),
- syndromes méningés et réaction lymphocytaire constante,
- vasodilatation cutanée et muqueuse,
- syndrome rénal (oligurie, albuminurie, hématurie),
- syndrome cutané (exanthème, herpès) en fin de période fébrile.

b) Signes évolutifs en l'absence de traitement

- après un début aigu, l'apparition des symptômes se fait rapidement ;
- l'évolution est fébrile, di- ou triphasique. La guérison se fait sans séquelles ;
- il y a rarement des complications oculaires tardives, d'uvéite, iridocyclite ou choriorétinite.

c) Signes facultatifs

- l'hépatonéphrite, l'ictère, l'anurie sont fréquents dans la leptospirose à *L. Ictero haemorrhagiae* et dans certaines régions ;
- un syndrome hémorragique, avec purpura, épistaxis, hémorragies ;
- une atteinte myocarditique ;
- des signes respiratoires, ganglionnaires, digestifs, nerveux peuvent également compléter ce tableau.

## 2. Les leptospiroses bovines

Selon ALSTON et BROOM (2), ces maladies auraient été étudiées cliniquement depuis le début du siècle, sans que leur véritable nature soit soupçonnée. Le bétail paie un lourd tribut aux leptospiroses.

### 2.1. Aspect clinique des leptospiroses bovines

Les leptospiroses chez les bovins peuvent revêtir divers symptômes dont aucun cependant n'est pathognomonique.

Bien que causées par plusieurs sérotypes de leptospires, elles peuvent présenter les mêmes tableaux anatomo-clinique, en particulier celui d'un syndrome ictéro-hémoglobinurique. De plus, la coexistence de tous les symptômes chez un même animal n'est pas de règle, mais une étude synthétique peut être réalisée

#### a) La leptospirose ictéro-hémoglobinurique type

On distingue quatre formes :

- La forme aiguë

Cette forme se rencontre surtout chez les jeunes. Après une phase d'incubation (8 à 10 jours), apparaît la phase d'invasion. Celle-ci se caractérise, comme au début de tout processus infectieux, par une hyperthermie (41,5°C et plus), avec augmentation des fréquences respiratoire et cardiaque et une anorexie, avec atonie gastro-intestinale. La diarrhée est intense, séreuse puis hémorragique. La quantité de lait chute puis peut s'annuler. Le lait est épais, jaunâtre, puis rose, rouge. Ensuite, vient la phase d'état. La température est redevenue normale. L'élément déterminant est la coloration anormale des muqueuses et de l'urine.

La teinte ictérique des muqueuses est d'abord visible sur la vulve, le vagin et l'anus, puis sur la conjonctive, et enfin sur les parties colorées de la peau. Il s'agit d'un ictère jaune franc ou jaune sale. Simultanément, la miction se fait plus rare et l'urine est toujours jaune brunâtre, voire rouge.

Il y a toujours de l'albumine et, selon les cas, de l'hémoglobine ou du sang en nature. Ces signes, très visibles à l'examen clinique, ont tendance à masquer les autres.

• La conjonctivite, qui entraîne un épiphora et qui est parfois associée à des ulcères bilatéraux du corps clignotant.

• Atteinte des premières voies respiratoires. Il se produit un catarrhe muqueux ou mucopurulent avec apparition de taches nécrotiques grisâtres de 0,5 à 1 mm de diamètre sur la muqueuse pituitaire, provoquant des saignements. Ces taches nécrotiques peuvent aussi toucher les muqueuses des gencives et les faces internes des lèvres.

• Affection cutanée : localisation cutanée sur la mamelle avec noircissement des trayons.

• Localisation nerveuse : GERLACH (31) a montré que l'infection des bovins par *L. Pomona* provoquait des troubles nerveux : incoordination motrice d'apparition brutale.

• Localisation génitale : les femelles gestantes avortent très généralement. Cet avortement pourrait être lié soit à la présence de leptospires dans le foetus, soit dans les cotylédons. Cette phase d'état dure 2 à 3 jours et souvent l'animal meurt par collapsus cardiaque.

— La forme suraiguë

Les symptômes seraient identiques, mais l'évolution est si brutale que l'ictère et l'hémoglobinurie n'ont pas le temps d'apparaître. La mort survient habituellement en moins de 48 heures.

— La forme subaiguë

La maladie s'étale sur une à trois semaines. Le taux de mortalité est de 50 %. Cette forme touche surtout les sujets âgés. La période fébrile se poursuit pendant plusieurs semaines mais la température est moins élevée.

L'ictère, d'apparition plus tardive, est moins marqué et peut même faire défaut.

L'hémoglobinurie est par contre de règle ainsi que la baisse de sécrétion lactée.

- La forme chronique

Elle fait suite à la forme précédente. La fièvre est intermittente, la diarrhée peut persister et le volume de lait produit baisse. L'hémoglobinurie est constante.

b) La leptospirose atypique

Divers états morbides peuvent relever de la leptospirose, mais leur diagnostic ne pourrait être mis en évidence que par sérodiagnostic.

- Mammite leptospirosique

Parmi les diverses étiologies de mammite, se trouve une mammite due aux leptospires. Elle se traduit par une coloration soit rosée soit jaunâtre et visqueuse du lait des quatre quartiers.

- Avortements en série

D'après ROSSI et KOLOCHINE-ERBER (68), la leptospirose peut parfois ne présenter que ce symptôme sans aucune autre modification clinique.

- Infections inapparentes

Seuls des sérodiagnostics systématiques qui mettent en évidence la présence d'anticorps à taux parfois très élevé.

En conclusion, la leptospirose des bovins peut revêtir diverses formes plus ou moins évocatrices. De plus, cette symptomatologie est très souvent fruste, incomplète ou inapparente, voire atypique sans ictère ni hémoglobinurie.

### 2.2. Diagnostic différentiel

Il est assez délicat car il existe de nombreuses autres affections anémiantes ou ictérigènes.

— Babésielloses et piroplasmoses

Elles répondent à la même symptomatologie, mais l'anémie est plus intense et l'hémoglobinurie constante. L'ictère est peut-être plus terne. Les commémoratifs saisonniers et de pâturage facilitent le diagnostic.

— Ictères entérotoxémiques

Les troubles nerveux apparaissent ici de façon plus fréquente. La présence de germes anaérobies (à partir du prélèvement hépatique) permet de trancher.

— Cystites hémorragiques

Il n'y a pas d'ictère et l'hématurie est intermittente. Il n'y a pas d'incidence sur l'état général.

— Hémoglobinurie puerpérale

On tient compte ici du moment d'apparition du phénomène ; l'ictère est moins prononcé.

— Intoxication

Lss cellules hépatiques ou rénales peuvent être touchées à l'occasion d'une intoxication par des sels de cuivre, la fougère ou la mercuriale.

### 3. Les leptospiroses équines

Ici aussi, le polymorphisme symptomatologique nous contraint à dresser une liste de formes typiques et atypiques.

### 3.1. Symptomatologie

#### a) Formes typiques

Elles sont tout à fait comparables à celles des bovins. Après l'incubation, s'établit une septicémie. La température atteint 40-40,5°C avec abattement, inappétence voire anorexie. La respiration est rapide et courte. La phase d'état est là aussi dominée par l'ictère. Une coloration jaune safran envahit tous les tissus. C'est le stade hépatorénal. Le foie augmente de volume, l'hypochondre droit est douloureux, l'atteinte rénale s'accuse par une démarche raide. Les urines sont rares, denses, avec albumine, pigments, sels biliaires et leucocytes. L'anémie s'accuse (environ 1 M/mm³ de globules rouges).

L'évolution est favorable dans 50 % des cas au bout de 10 jours. Il y a polyurie avec élimination de toutes les toxines. La convalescence est longue car l'animal est amaigri, épuisé et anémié. La coloration des muqueuses persiste 15 jours à 3 semaines. Dans la forme suraiguë, l'animal meurt de septicémie dans les 3 premiers jours. Dans la forme chronique, la symptomatologie est plus fruste mais le sérodiagnostic montre un taux parfois élevé d'anticorps.

#### b) Formes atypiques

— Forme oculaire

Une ou deux paupières se tuméfient. Il apparaît une conjonctivite et un chémosis avec larmoiement muqueux ou mucopurulent. La photophobie est intense. L'iris devient gris terne bordé de rouge. Après 4-6 jours, congestion, photophobie et myosis diminuent. Il peut suivre un hypopion ou un hypohéma. Les séquelles sont inconstantes : depuis la récupération totale jusqu'à la persistance d'opacité cornéenne, de synéchies, de cataracte avec luxation ou subluxation du cristallin, d'atrophie rétinochoroïdienne, microphtalmie ou cécité.

Cette iridocyclite récurrente d'étiologie leptospirique est une question controversée. Pour certains auteurs, il ne s'agirait que d'une réaction allergique, néamoins, il est montré que le sérodiagnostic d'animaux atteints est toujours positif.

— Forme méningée : encéphalose hépatique

En même temps que le tableau d'hépatonéphrite, apparaissent des signes nerveux avec, là aussi, parésie, ataxie ou paralysie.

3.2. Diagnostic différentiel

(1) La piroplasmose : ici, l'anémie est plus évidente, l'ictère moins violent, l'hémoglobinurie plus importante.

(2) La fièvre typhoïde : l'évolution est bénigne. Cette maladie revêt un caractère épizootique.

(3) Salmonellose : les signes gastro-intestinaux prédominent.

(4) L'anémie infectieuse : il n'y a pas d'ictère, mais surtout une splénomégalie et tachycardie.

(5) Brucellose : il n'y a pas d'ictère, la température est ondulante, les synovites, artrites, maux de jarret et nuque n'existent pas dans la leptospirose.

(6) Méningo-encéphalite chronique : il n'y a pas d'ictère. Seuls apparaissent les signes nerveux.

4. Les lésions

Mises à part les lésions de la forme oculaire, elles sont en tout point comparables et peuvent donc être regroupées dans le même chapitre pour les deux espèces.

4.1. Animal mort pendant la phase septicémique

Le tableau est classique et est dominé par la congestion et l'hémorragie. Les conjonctifs portent de nombreuses pétéchies. Les grandes cavités contiennent un liquide rougeâtre, les muscles sont dégénérés, ont un aspect "cuit". Le sang est fluide et visqueux.

### 4.2. Animal mort pendant la phase d'état

Quand l'ictère est présent, c'est lui qui domine le tableau. Tous les tissus et organes sont touchés.

Le foie d'abord congestionné, hypertrophié, s'atrophie par la suite et se ramollit. Histologiquement, des foyers de nécrose peuvent être observés et parfois une discrète vacuolisation du cytoplasme. Des macrophages, contenant de l'hémosidérine sont groupés dans le tissu périportal et on découvre des infiltrations cellulaires autour des canalicules biliaires qui peuvent être thrombosés.

Le rein, d'abord brun ou rouge, s'hypertrophie. La décapsulation est facile. A un stade plus avancé, la néphrite évolue vers une dégénérescence atrophique. Microscopiquement, on note une hyperhémie des glomérules ; les tubules distendus contiennent une substance hyaline et des débris cellulaires s'accumulent dans les tubes contournés. Sur les coupes, après imprégnation métallique, on constate la présence de nombreux leptospires.

Les lésions oculaires sont cependant propres aux équins. On note une inflammation néocapillaire de tout l'oeil, une infiltration de la cornée, des exsudats dans l'humeur aqueuse (hypopion) des organisation fibreuses de l'iris (synéchis), une opacité du cristallin et une rétine décolorée.

## II. - Situation dans le Morbihan

En ce qui concerne les bovins, aucun animal ne présentait au moment de notre étude de signes pouvant se rapprocher de ceux de la leptospirose. Les prises de sang ont été effectuées au hasard dans l'étable. De plus, par la suite, aucune mortalité ou morbidité ne nous a été rapportée. Parmi les chevaux, deux étalons du haras de Hennebont avaient présenté, l'un (Guam Fleury) en novembre 1975, l'autre (Turenne) en mars 1976, des signes de fluxion périodique. Une recherche d'anticorps avait donc été réalisée et ces animaux avaient été isolés. Au moment de notre enquête, aucun animal ne présentait plus de troubles

cliniques. En définitive, les prélèvements ont été effectués sur des animaux apparemment en bonne santé et à aucun moment, nous ne nous sommes trouvé confronté à une leptospirose ouvertement déclarée.

Qu'allaient montrer les sondages sérologiques ?

## B. - DONNEES SEROLOGIQUES

### I. - Méthodes

Notre étude a porté pendant la période de juin à novembre 1979 sur 53 bovins appartenant à huit éleveurs de la région d'Auray (Morbihan). Il s'agit de vaches laitières appartenant à la race Française Frisonne Pie Noire et à la race normande. Nous avons aussi cherché les anticorps sur deux veaux d'une dizaine de jours.

Nous avons pu aussi effectuer un prélèvement sur tous les pensionnaires du haras de Hennebont, soit 122 chevaux appartenant à la race des "Traits Postiers Bretons". Il n'y a là que des étalons et des hongres. L'effectif au complet du haras de Coëtquidan a aussi été sondé, soit 94 chevaux. Ce sont des chevaux de selle, de sexe et âge variés. De même, le personnel au complet des deux haras (soit 53 personnes) a été testé à l'occasion d'enquêtes conjointes de la médecine et de l'Institut Pasteur.

Le prélèvement animal s'effectue par ponctions à la veine jugulaire. Le sang est recueilli dans un tube stérile ne contenant pas d'anticoagulants. Chaque tube de 10 ml de sang est alors placé dans une boîte isotherme puis dans un réfrigérateur à - 4°C en attendant d'être expédié dans les délais les plus brefs au laboratoire de la Direction des Services Vétérinaires de Vannes. Dès réception, le sérum y était alors séparé par centrifugation à 8.000 t/mn pendant 30 minutes et introduit aseptiquement dans des tubes à hémolyse, puis placés ensuit à congélation à - 30°C. Enfin décongelés et filtrés pour éliminer les contaminations éventuelles, les prélèvements étaient dirigés sur l'Institut Pasteur de Paris, seul établissement disposant de la totalité des souches de leptospires.

La méthode sérologique utilisée est la classique réaction d'agglutination-lyse de MARTIN et PETTIT. La lecture est faite au microscope à fond noir.

La technique utilise un mélange de quatre antigènes contenant chacun trois sérotypes, auquel est ajouté le sérotype *L. Biflexa Patoc*. Les sérums ayant une agglutination-lyse significative pour l'un des mélanges sont ensuite examinés vis-à-vis des trois sérotypes de ce mélange. L'interprétation des lectures se fait selon les normes de l'O.M.S. (1967) : la dilution où 50 % des germes ne sont pas touchés par le phénomène d'agglutination-lyse est positive ; la limite de la réaction positive est donc la dernière dilution pour laquelle 50 % des germes ne sont pas touchés. Seuls sont retenus les sérums ayant un taux d'anticorps supérieur au 1/100e.

Ces résultats, avec la dilution limite de 1/100, doivent seuls être reconnus en raison des risques d'éventuelles réactions non spécifiques aux dilutions inférieures. Le seuil d'anticorps 1/100 est d'ailleurs adopté par les pays exportant ou important des bovins.

## II. - Résultats

### 1. Bovins

#### a) Résultats

- résultats négatifs : 38..... 73,6 %
- résultats positifs : 15..... 26,4 %

Répartition des sérodiagnostics positifs

| | Nombre de cas A C > 1/100 | 0 % relatif | Nombre de cas A C > 1/500 | 0 % relatif |
|---|---|---|---|---|
| *L. Autumnalis* | 8 | 57,14 % | 2 | 40 % |
| *L. Bataviae* | 3 | 21,40 % | 1 | 20 % |
| *L. Icterohgiae* | 0 | | 0 | |
| *L. Ballum* | 1 | 7,10 % | 0 | |
| *L. Hebdomadis* | 1 | 7,10 % | 1 | 20 % |
| *L. Grippotyphosa* | 1 | 7,10 % | 1 | 20 % |
| | 15 | 26,40 % | 4 | 35,7 % des 1/100<br>7,6 % du total |

b) Discussion

En France, en 1962, LATASTE-DOROLLE (45) faisant des sérodiagnostics sur 457 bovins de cinq exploitations du Nord et du Cher, trouvait 17,5 % d'animaux réagissant à un taux supérieur à 1/100 avec comme sérotype l'ordre décroissant - *Australis*, *Grippotyphosa*, *Ictero haemorrhagiae* et *Pomona*.

— En une étude répartie sur 3 ans (1963-1964-1965), GAUMONT (30) découvre respectivement 20, 19 et 28 % de sérums ayant un taux d'anticorps supérieur à 1/100. Il explique le taux élevé (28 %) de l'année 1965 en raison de la forte humidité de cette année et l'écologie particulière de *Microtus arvalis* (campagnol), hôte habituel de *L. Grippotyphosa* cette année là. Il observe en 1963 une prédominance de *L. Australis* et *L. Ictero haemorrhagiae* puis en 1964

une nette augmentation de *L. Grippotyphosa*, à égalité avec *L. Australis* et en 1965 une prédominance de *L. Grippotyphosa*.

— En 1964, FIACRE et LATASTE-DOROLLE (26), sur l'étude de 154 vaches ayant avorté ou ayant donné naissance à un veau mort, trouve 12,9 % de bovins infectés avec prédominance de *L. Australis*.

— En 1972, DABERNAT et coll. (21), sur 2.080 bovins de la Haute-Garonne, mettent en évidence 30 % de sérodiagnostic à un taux supérieur à 1/100. Les sérotypes dominants sont *Grippotyphosa* et *Australis*.

Le pourcentage d'animaux atteints (26,4 %) se rapproche donc de celui communément admis. Le mois de novembre 1979, date à laquelle ont été effectuées des prises de sang, ne présentait pas de conditions météorologiques particulières. Les sérotypes prédominants ne se rapprochent pas, par contre, de ceux trouvés par les auteurs précités. Ceci peut vraisemblablement s'expliquer par le fait que beaucoup d'animaux actuellement proviennent de régions éloignées de la Bretagne, voire même en dehors des frontières.

En effet, la répartition mondiale des sérotypes est tout autre.

En U.R.S.S., NIKOLAJEFF (61) montre que *L. Grippotyphosa* est responsable de l'épizootie ; en Israël, BERNKOPF (6) met aussi en évidence *L. Grippotyphosa* ; en Afrique Centrale, 35 % des bovins seraient atteints et par ordre décroissant touchés par *L. Australis*, *Bataviae*, *Grippotyphosa* ; en Australie (45), aux U.S.A. (37), en Nouvelle Zélande (69), il s'agit de *L. Pomona* qui est le sérotype le plus répandu ; au Brésil, SANTA ROSA et coll. (70) isolent *L. Ictero haemorrhagiae*.

En conclusion, un pourcentage important de bovins ont un taux d'anticorps élevé. Evidemment, il est difficile d'affirmer selon ces taux qu'il s'agit d'une "leptospirose maladie" ou d'une "leptospirose en évolution". Mais ces titres prouvent de toutes façons un "contact avec le leptospire".

2. Chevaux

Les sérodiagnostics ont été effectués sur 216 chevaux, 94 appartenant au haras de Coëtquidan, 122 à celui d'Hennebont (Morbihan). Les animaux de Coëtquidan, quand ils sont introduits dans l'écurie, ne sortent que pour des promenades à l'intérieur du camp militaire ; ceux d'Hennebont quittent l'établissement pour les stations de monte réparties dans la circonscription (Finistère, Morbihan, Ille et Vilaine). Les deux établissements respectent par ailleurs des consignes sanitaires strictes et l'hygiène y est méticuleuse.

a) Résultats (voir tableau p. 57)

Le pourcentage d'animaux atteints est de 25,5 % à Coëtquidan et 16,4 % à Hennebont. Ce sérotype prédominant est dans un cas comme dans l'autre *L. Autumnalis* (29,11 % et 55 % du résultat partiel) puis *Ictero haemorrhagiae*.

b) Discussions - Comparaisons

En France, ROSSI et KOLOCHINE ERBER (68) en 1953 ont trouvé 50 % de chevaux infectés sur 162 chevaux testés avec par ordre de sérotypes décroissants : *L. Australis*, *Ictero haemorrhagiae* puis *Grippotyphosa*, *Canicola* et *Pomona*.

En Angleterre, ALSTON et BROOM (2) ont trouvé 60 % (sur 108) de chevaux en Allemagne, 30 % sur 162 réagissent (46) ; en Hongrie, 52,6 % sur 38 et aussi en U.R.S.S. (62).

En dehors de l'Europe, le sérotype le plus fréquemment rencontré est *L. Pomona* ; aux U.S.A. (34), *L. Canicola*, *L. Hyos* et *L. Ictero haemorrhagiae* ; en Amérique du Sud (71) et au Maroc (53), *L. Ictero haemorrhagiae*.

Les résultats obtenus ici sont donc légèrement inférieurs à ceux habituellement trouvés. Ceci peut être expliqué sans doute par la tenue sanitaire et médicale exceptionnelle des deux établissements.

## Résultats des sérodiagnostics

(1) chevaux du haras de Coëtquidan

- résultats négatifs : 70..... 74,75 %
- résultats positifs : 24..... 25,25 %

(2) chevaux du haras d'Hennebont

- résultats négatifs : 102..... 83,60 %
- résultats positifs : 20..... 16,4 %

## Résultats totaux

- résultats négatifs : 172..... 79,60 %
- résultats positifs : 44..... 20,40 %

## Répartition des sérodiagnostics positifs

| AC 1/100 | Coëtquidan | | Hennebont | |
|---|---|---|---|---|
| | Nombre | Pourcentage | Nombre | Pourcentage |
| *L. Autumnalis* | 7 | 29,10 % | 11 | 55 % |
| *L. Bataviae* | 2 | 8,30 % | 3 | 15 % |
| *L. Ictero haemorrhagiae* | 8 | 33,20 % | 3 | 15 % |
| *L. Grippotyphosa* | 4 | 16,60 % | 0 | — |
| *L. Hebdomadis* | 0 | — | 1 | 5 % |
| *L. Ballum* | 2 | 8,30 % | 1 | 5 % |
| *L. Autumnalis* | 1 | 4,10 % | 1 | 5 % |
| | 24 | 25,25 % du total | 20 | 16,4 % du total |

Parmi ceux-ci, on a pu évaluer ceux dont les anticorps dépassent le 1/500e et 1/1.000e.

| | Coëtquidan | | Hennebont | |
|---|---|---|---|---|
| | AC > 1/500 et % | AC > 1/1.000 et % | AC > 1/500 et % | AC > 1/1.000 et % |
| *L. Autumnalis* | 2 16,6 % | 1 33,3 % | 3 33 % | 0 |
| *L. Bataviae* | 2 16,6 % | 0 | 1 11 % | 0 |
| *L. Ictero haemorrhagiae* | 5 41,5 % | 2 66,6 % | 3 33 % | 0 |
| *L. Grippotyphosa* | 1 8,3 % | 0 | 0 | 0 |
| *L. Hebdomadis* | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *L. Ballum* | 2 16,6 % | 0 | 1 11 % | 0 |
| *L. Autumnalis* | 0 | 0 | 1 11 % | 0 |

Nous noterons cependant le taux particulièrement élevé de *L. Autumnalis* chez les chevaux de Hennebont.

c) Etude particulière

De plus, une dynamique des anticorps a pu être suivie pour deux individus. Il s'agit des étalons Gvam Fleury et Turenne.

Gvam Fleury

- 1ère recherche le 17/11/75

  taux d'anticorps anti *L. Ictero haemorraghiae* 1/300e
  *L. Ballum* 1/300e

- 2e recherche le 11/12/75

  taux d'anticorps anti *L. Ictero haemorrhagiae* 1/500e
  *L. Grippotyphosa* 1/400e

  Cette augmentation du taux d'anticorps traduit une leptospirose en évolution.

- 3e recherche le 21/01/76

  taux d'anticorps anti *L. Ictero haemorrhagiae* 1/1.000e

  Présence de coagglutines pour *Canicola*, *Pyrogenes*, *Ballum*, *Grippotyphosa*. Le taux constant élevé confirme la leptospirose.

- 4e recherche le 29/03/76

  taux d'anticorps *L. Ictero haemorrhagiae* 1/1.000e

  Coagglutinines pour *Canicola*, *Ballum*, *Grippotyphosa*, *Pyrogenes* au 1/80e

- 5e recherche le 14/06/76

  taux d'anticorps anti *L. Ictero haemorrhagiae* 1/1.000e

- 6e recherche le 8/11/79

  taux d'anticorps anti *L. Bataviae* 1/100e

  Agglutinines pour *L. Ictero haemorrhagiae* et *L. Canicola* 1/10e.

L'élévation du titre des anticorps *L. Ictero haemorrhagiae* prélevés à intervalles réguliers permet de conclure ici à la positivité depuis le 17 novembre 1975 jusqu'au 14 juin 1975.

Ensuite, la cinétique des anticorps a évolué jusqu'à l'extinction totale de *L. Ictero haemorrhagiae* et une recrudescence de *L. Bataviae*. L'animal ne présente pas par ailleurs à ce jour de signes cliniques.

Turenne

- 1ère recherche le 11/03/76

  anticorps anti *L. Ictero haemorrhagiae* 1/400e

- 2e recherche le 20/03/76

  anticorps anti *L. Ictero haemorrhagiae* 1/800e + coagglutinines
  *L. Canicola* 1/300e
  *L. Ballum pyrogenes* 1/70e

- 3e recherche le 14/06/76

  *L. Ictero haemorrhagiae* baisse à 1/80e
  *L. Canicola* augmente de 1/300e à 1/800e.
  On note ici un phénomène de croisement des anticorps.

- 4e recherche le 08/11/79

  *L. Autumnalis* 1/400e
  *L. Grippotyphosa Bataviae* 1/70e
  *L. Ballum* 1/50e
  *L. Ictero haemorrhagiae* 1/10e

Ici aussi, l'évolution des anticorps s'est considérablement modifiée. L'augmentation d'*Ictero haemorrhagiae* a permis de conclure à la séropositivité puis il s'est produit ensuite un phénomène de croisement avec mutisme d'*Ictero haemorrhagiae* et *Canicola* et recrudescence d'*Autumnalis*.

Nous noterons aussi qu'il s'agisse des bovins ou des équins, que les problèmes des coagglutinines existent toujours. Il est fréquent que les anticorps des leptospires d'un sérotype donné agglutininent également les leptospires apparentés au voisin d'un même sérogroupe. En effet, la classification actuelle est basée sur les anticorps élaborés chez le lapin. Mais ces agglutinines anti-lapins peuvent être différentes quantitativement et qualitativement de celles des bovins et équidés.

3. Humains en contact

Le médecin militaire a effectué 15 prises de sang sur les personnes du haras de Coëtquidan.

Des prises de sang sur le personnel d'Hennebont (38 sérums) et une partie de la population d'Auray qui est ou a pu être en contact avec les bovins (20 sérums) ont été effectuées dans le cadre de la médecine du travail. Ici, tous les résultats sont négatifs.

Certes, ce petit nombre de personnes sont négatives ; mais ces résultats concordent avec ceux observés en Autriche, où deux personnes s'occupant de meutes de chiens avaient été malades sur plus de 2.000 examinées et les constatations déjà décrites page 39 concernant la morbidité et la mortalité humaine.

Ceci n'empêche pas de classer les leptospiroses parmi les zoonoses authentiques reconnaissant un réservoir animal et tellurique varié et largement répandu.

## CONCLUSION

De l'étude précédente, trois notions peuvent être mises en valeur :

— le pourcentage des bovins infectés se raproche de celui habituellement trouvé ; celui de chevaux est légèrement inférieur à la norme. Les sérotypes dominants, par contre, ne concordent pas avec ceux des études précédentes. Ceci doit sans doute être lié aux distances que parcourent les animaux aujourd'hui.

— les animaux, même possédant une séropositivité élevée, ne présentent pas de signes cliniques apparents. Le mutisme est dangereux tant au point de vue médical que sanitaire.

— les humains en contact étroit avec ces animaux se sont tous révélés, dans cette étude, séronégatifs, constatation qui permet en aucun cas de nier tout danger.

Ces résultats apparemment contradictoires ne doivent cependant pas faire oublier au vétérinaire la réalité de la maladie tant humaine qu'animale ; c'est à lui d'insister sur les consignes de prophylaxie sanitaire et d'effectuer un sérodiagnostic (véritable clé de voûte du diagnostic) quand il existe un élément de suspiscion, afin de limiter au maximum les risques latents d'épizootie ou d'épidémie pouvant trouver dans certaines conditions d'élevage et météoroclimatiques des possibilités épidémiologiques d'expression.

# CONCLUSION GENERALE

Parvenu au terme de cette étude, il nous faut bien exprimer quelques regrets de n'avoir pu réaliser un plus grand nombre d'examens afin de rendre les résultats plus significatifs.

Cependant, pour fragmentaires et aléatoires qu'ils soient, on peut en déduire que dans les cantons de Coëtquidan, Hennebont et Auray, les deux haras et les élevages bovins objets de notre enquête présentent des stigmates d'infection leptospirosique.

Nous ne pouvons pas ici confirmer que la densité des animaux, l'hygiène générale de l'élevage ainsi que la prolifération de rats et les conditions atmosphériques sont des facteurs favorables au développement et à la propagation des germes. Mais il faut bien reconnaître qu'à aucun moment, nous nous sommes trouvé confronté avec une leptospirose ouvertement déclarée.

C'est là qu'intervient le caractère insidieux de la maladie qui, au demeurant, n'évolue qu'exceptionnellement jusqu'à la forme aiguë.

Sans parler des dangers qu'elle présente pour l'homme, cette éventualité est pourtant à redouter car elle peut être la cause de graves pertes économiques (avortements, mammites, etc.). Il semble que les éleveurs et directeurs de haras n'y prêtent guère attention et qu'ils n'hésitent pas à introduire dans les établissements des animaux achetés sans contrôle préalable et qui, s'ils sont porteurs de germes peuvent contaminer l'élevage le plus sérieusement isolé et le mieux tenu.

En bref, oublier volontairement l'existence de la leptospirose ou tout simplement la négliger pourrait du fait de son inapparence habituelle conduire à la multiplication de "réservoirs de virus" dont les conséquences feraient peser un risque sérieux et permanent non seulement sur l'économie de l'exploitation mais également sur la santé des hommes qui y travaillent.

Eleveurs et praticiens doivent donc demeurer vigilants, car comme le prétend la sagesse populaire, "*il n'est pire eau que l'eau qui dort*".

: Le Professeur de l'Ecole Vétérinaire
rapporteur

Professeur CHANTAL

Vu : Le Directeur de l'Ecole
Vétérinaire

Professeur R. LAUTIE

u : Le Président de la Thèse

Professeur ARMENGAUD

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Toulouse, le 19.01.82

L'ADMINISTRATEUR PROVISOIRE DE
L'UNIVERSITE PAUL SABATIER

Professeur D.

UNIVERSITE PAUL-SABATIER - TOULOUSE

# B I B L I O G R A P H I E


1. ALEXANDER A., SMITH P., HIATT, GLEISER - Presence of hemolysin in cultures of pathogenic leptospires.
Proc. Soc. exp. biol. Med., 1956, 95, 205-211.

2. ALSTON J.M. - Leptospirosis in British Island in man and animals.
Thesis Med. Vet., Edinburgh, 1948.

3. ANANIN V.V. - Natural reservoirs of leptospires.
Zool. Zhur, 1954, 33, 331-340.

4. BABUDIERI, BUSSILINO et coll. - Reservoirs of leptospires.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1953, 70, 400-401.

5. BABUDIERI B. - Epidemiology of leptospirosis in Italian rice fields.
Adv. Control Zoon. Monogr. OMS, 1953, 19, 117-126.

6. BERNKOPF M. - Experimental works in leptospirosis in cattle and man in Palestine.
Harefwah, 1946, 30, 109.

7. BERNKOPF M. - Experimental leptospirosis infection in chickens.
Proc. Soc. biol. Med., 1948, 67, 148-149.

8. BERTOK L., KEMENESL F. - Studies on the lipase system of leptospirosis L. tributyrimase activity.
Acta microbiol. Acad. Sci. Hung., 1960, 7, 251-259.

9. BLANC, MAILLOUX, KOLOCHINE, ERBER - Enquêtes épidémiologiques sur les leptospires au Maroc.
Bull. Soc. Pathol. exot., 1961, 54, 761-766.

10. BLANCHARD M., LEFROU G., LAIGRET -
Bull. Soc. Pathol. exot., 1923, 16, 184.

11. BRUNNER R., MEYER A. - Immunization of hamsters and dogs against experimental leptospirosis.
J. Immunol., 1950, 64, 365-372.

12. BROOM J.C. - Weil's disease and Canicola fever. Problems of diagnosis and treatment.
New Castle med. J., 1953, 24, 139-146.

13. BRYAN J.F. - Studies on leptospirosis in domestic animals. Isolation of L. Pomona from aborted swine fetuses.
Vet. Med., 1953, 48, 438.

14. BURGDORFER W. - The possible role of ticks as vectors of leptospirae. Transmission of L. Pomona by the Argasid tick Ornithodorus turricata. Exp. Parasitol., 1956, 5, 571-579.

15. CARLIFANTI G. - Richerche reagioni immunitarie nelle leptospirosis. Bull. Ist. sieroter Milano, 1939, 18, 504.

16. CHALQUEST R.R. - Wild birds as carriers of pathogenic leptospira. Bull. Acad. Sci., 1960, 19, 88-92.

17. CHUNG M.G. et coll. - Chin. med. J., 1963, 82, 774-783.

18. COGHLAN J.D., NORVAL J., SEILER E. - Br. Med. J., 1957, 9, 257.

19. COX C.D. - Hemolysis of sheep erythrocytis sensitised with leptospiral extracts. Proc. Soc. exp. Med. Biol., 1953, 90, 610-615.

20. COX C.D. - Standardization and stabilization of an extract from L. biflexa and its use in the hemolytic test for leptospirosis. J. infect. Dis., 1957, 101, 203-209.

21. DABERNAT M., LARENG M.B., MAILLOUX M. - Enquête sur la présence d'anticorps antileptospires chez les bovins de la Haute-Garonne. Revue Méd. vét., 1972, 123 (12), 1529-1533.

22. DAVIDSON, SMITH - Weil's disease in fish workers, a clinical, chemical, bacteriological study of 40 cases. Quart. J. Med., 1936, 5, 263.

23. DELAMBRE, ARCHITOW - Indices de courbures au Spirochoeta recurentis et Spirochoeta ictero haemorrhagiae. C.R. Soc. Biol., 1925, 92, 863.

24. FAINE S. - Catalase activity in pathogenic leptospira. J. Gen. Microbiol., 1960, 22, 1-9.

25. FAINE S. - Phagocytis and its significance on leptospiral infections. J. exp. Biol., 1960, 42, 579-588.

26. FIACRE, LATASTE, DOROLLE - Premiers résultats d'une enquête sur les leptospiroses bovines dans le pays Fort (Cher - Nord). Bull. Acad. vét. fr., 1964, 37, 367-369.

27. FÜHNER F. - Epidemiologische Untersuchungen zur Nettel binger Weil Bad Epidemie. Stadt Hygiene, 1950, 9, 13-20.

28. FULTON J.D., SPOONER D.F. - The metabolism of L. ictero haemorrhagiae in vitro.
Exp. Parasit, 1956, 5, 154-177.

29. FUZI M. CSOKA R. - Die Differenzierung der Pathogenen und Saprophytischen Leptospiren Mittels mit eines Kupfersulfattest.
Zbl. Bakt. Origin, 1960, 179, 231-237.

30. GAUMONT G. - Enquête sur la présence d'agglutinines antileptospires chez les animaux domestiques en France.
Bull. off. int. Epizoot., 1966, 66, 833-849.

31. GERLACH - Leptospiral meningitis in cattle.
Wiehr. Tierärztl. Vschr., 9, 65-77.

32. GILLEPSIE R. et coll. -
Am. J. vet. Res., 48, 76-77.

33. GOCHENOUR et coll. - Porcine leptospirosis.
Am. J. vet. Res., 1952, 13, 158-160.

34. GOCHENOUR et coll. - Antigenic similarity of bovine strains of leptospirae and L. Pomona.
Proc. Soc. exp. biol. Med., 1950, 74, 199-202.

35. GOLDBERG M.S., ARMSTRONG J.C. - Oxydase reactions with leptospiral colonies and its adaptation to antibiotic sensitivity testing.
J. Bacteriol., 1959, 77, 512-513.

36. GORDON, SMITH, TURNER - Effect of pH on the survival of leptospires in water.
Bull. OMS, 1961, 24, 35-43.

37. HANSON L.F. - Bovine leptospiris.
J. Dairy Sci., 1960, 43, 453-463.

38. HIATT, ROTHSTEINN - Studies on immunochemistry of leptospires.
J. Immunol., 1956, 77, 257-265.

39. HOEDEN J. Van - Epizootiology of leptospirosis.
Adv. vet. Sci., 1960, 4, 277-339.

40. HOEDEN J. Van - A milk agglutination in leptospirosis.
Cornell Vet., 1965, 45, 190-192.

41. HOEDEN J. Van - Epizootiology of leptospirosis.
Dept. exp. Epid. Notes from biol. Res., 1960, 300-301.

42. HOEDEN J. Van - Epidemiology and laboratory diagnosis of leptospires.
Harefuah, 1955, 48, 23.

43. HOEDEN J. Van - The pathogenicity of leptospirae to field rodents in Israel.
J. infect. Dis., 1954, 95 (3), 213-219.

44. INADA, IDO, MOKI, ITO - The etiology, mode of infections and specific therapy of Weil's disease (Spirochetosis ictero haemorrhagiae).
J. exp. Med., 1916, 23, 377-402.

45. JOHNSON D.W. - The Australian leptospirose.
Med. J. Aust., 1950, 2, 724.

46. KATHE J. - Infektionen mit Leptospira grippotyphosa bei Tieren und ihren Bedeutungen für die Epidemiologie des Schlamm-Field-Febers.
Ztsch. Immunitast Forsch., 1943, 103, 60-73.

47. KIRSCHNER L., MAGUIRE T. - Antileptospiral effect of milk New Zealand.
Med. J., 1957, 56, 560-564.

48. KLARENBEEK A. - 4th int. Congress Trop. Med., 1938, 381.

49. LATASTE, DOROLLE - Agglutinines antileptospires chez les bovins apparemment normaux.
Bull. off. int. Epizootie, 1965, 63, 891-905.

50. Mac INTYRE, SEILER - Epidemiology of Canicola fever.
J. Hyg., 1953, 51, 330-339.

51. MAESTRONG, BENJAMINSON - Nature (Lond.), 1962, 58, 719-720.

52. MAILLOUX M. - Notes sur l'épidémiologie des leptospires.
Biol. méd., 1965, 54, 312-314.

53. MAILLOUX M. - Leptospiroses des équidés au Maroc.
Bull. Soc. Pathol. exot., 1969, 62, 827-829.

54. MAILLOUX, KOLOCHINE, ERBER - Etude sur le métabolisme des leptospires. Essai de milieu chimiquement défini.
Ann. Inst. Pasteur, 1961, 100 (3), 390-395.

55. MANTEUFEL P. - Methodi di cultura senplificato per le Spirochete de "maladie de Weil".
Dtsch. Med. Wschr., 1921, 47, 461.

56. MARTIN, PETTIT - Spirochetose ictero-hémorragique. Masson (Ed.), Paris, 1979.

57. MEINOTTE P. - Epidémiologie des leptospiroses.
Revue Hyg. Méd. soc., 1953, 1, 417-434 et 503-532.

58. MOLLARET P. - Leptospires. Cours de Microbiologie, Institut Pasteur, 1959, Annexe 92 T.

59. MORTER, MORSE - Experimental leptospirosis. The role of calves in the transmission of L. Pomona among cattle, swine, sheep and goats.
J. Am. vet. med. Ass., 1956, 128, 408-413.

60. MURASCHI - Latex leptospiral agglutination tests.
J. Soc. exp. Biol. Med., 1958, 99, 235-238.

61. NICOLAJEFF I. - Leptospirosis in the U.S.S.R.
Med. Parasit (Moscou), 1945, 15, 155.

62. NICOLAJEFF I. - Leptospirosis in the U.S.S.R.
Med. Parasit (Moscou), 1945, 15, 75.

63. OSTERTAG M. - Leptospirosis ictero haemorrhagiae in Bulgaria.
Z. Hyg. Infek. Kranksh., 1950, 131, 482-500.

64. PARNAS J., KOSLAK, KRUKOWSKA - Untersuchungen der Leptospirenlipase.
Zbl. Bakt., 180, 386-389.

65. REILLY J.P. - The racoon as a wild field reservoir of L. canicola .
N.Y. Fish and Game J., 1954, 1, 220.

66. REITER, RAMME - Beiträge für Aetiologie der Welschen Krankheit.
Dtsch. med. Woch., 1916, 42, 1282-1284.

67. RIEL J. (Van) - Les hémolysines leptospiriennes.
Ann. Soc. belg. Med. Trop., 1959, 39, 331-342.

68. ROSSI P., KOLOCHINE, ERBER P. - Leptospiroses équines.
Rec. Méd. vét., Alfort, 1956, 132, 21-35.

69. SALISBURY - Leptospirosis in New Zealand livestock.
J. N.Z. Brit, Review.

70. SANTA ROSA et coll. - Isolamento de lept. ictero haemorrhagiae de bovins en Sao Paulo.
Arq. Inst. Biol., 1961, 28, 113-118.

71. SAVINO, RENNELLA E. - Leptospira en animales vaccunos equinos y lanares en la Republica Argentina.
Rev. Inst. Bact., 1945, 13, 72-76.

72. SCHLOSSBERGER, KREUZ - Über leptospiren Untersuchungen im hygienischen Institut der Stadt und Universität Frankfurt.
M. Z. Hyg. Infek. Krankh., 1954, 140, 433-441.

73. SCHMIDT, GIOVANELLA -
Schw. Arch. Tierheilk., 1947, 89, 1.

74. SCHULZ W. - Die Leptospirose des Hundes unter besonderer Berncksichtigung der Spercheluntersuchung und der Symptomatik.
Arch. exp. Vet. Med., 1951, 6, 188-192.

75. STOENNE H.G. et coll. - The epizootiology of bovine leptospirosis in Washington. J. Am. vet. med. Ass., 1956, 129, 251-259.

76. TURNER - Leptospirosis.
Transact. Roy. Soc. trop. Med. Hyg., 1967, 61, 848-849.

77. UHLENHUTH P., FROMME W. - Weilsche Kromkhest.
Handbuch der pathol. Mikroorganismen, 1930, 7 (1), 487.

78. VOLLAND W., BREEDE M.D. - Zur Frage die Hyaluronidag Bildung nach Leptospiren em Betrag zum Problem Meningitis Entstehung und der Blutgehirenkranke.
Med. Monatsh. Suttgart, 1956, 10, 698-700.

79. VRANSKY - Erg Hyg., 19 , 27, 323.

80. WARD et coll. - An epidemic of canicola feber in man with the demonstration of L. canicola infection in dogs, swine and att e.
Lab. Stud. Am. J. Hyg., 1956, 64, 59-69.

81. WEBSTER, REYNOLDS - Immunization against L. Pomona.
N.Z. vet. J., 1955, 3, 47-59.

82. YAGER R.H., GOCHENOUR, WETMORE - Recurrent iridocyclitis of horses.
J. Am. vet. med. Ass., 1950, 7, 207-209.

83. YORK C.J. - Aspects of control in bovine leptospirosis.
Proc. Ann. Meet. US Livestock Sanit. ASJ, 1951, 295-300.

84. ZUELZER - Die Spirochaëten Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. 3e Edit., 1937, 1627.